ORSAY
Série A. N°
N° d'ordre : 1477

PARIJS

THESE

présentée
à la Faculté des Sciences d'ORSAY

pour obtenir

le grade de Docteur ès-Sciences Naturelles

par

Chantal VAILLANT-LAFUMA

ÉTUDE DE LA CINÉTIQUE SANGUINE PRÉCOCE DU RADIOCALCIUM : MESURE DE LA DÉPOSITION GLOBALE INSTANTANÉE DU CALCIUM DANS LE SQUELETTE DU RAT

Soutenue le 15 Mai 1975 devant la

Commission d'Examen

F. CHEVALIER
J.C. STOCLET, Rapporteur
Y. CHERRUAULT
J.L. FUNCK-BRENTANO
H. MATHIEU

THESE

présentée

à la Faculté des Sciences d'ORSAY

pour obtenir

le grade de Docteur ès-Sciences Naturelles

par

Chantal VAILLANT-LAFUMA

ÉTUDE DE LA CINÉTIQUE SANGUINE PRÉCOCE DU RADIOCALCIUM : MESURE DE LA DÉPOSITION GLOBALE INSTANTANÉE DU CALCIUM DANS LE SQUELETTE DU RAT

Soutenue le 1975 devant la

Commission d'Examen

F. CHEVALIER
J.C. STOCLET, Rapporteur
Y. CHERRUAULT
J.L. FUNCK-BRENTANO
H. MATHIEU

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Que Monsieur F. CHEVALLIER, professeur à l'Université PARIX XI, reçoive l'expression de ma profonde gratitude pour avoir accepté de juger ce travail avec bienveillance et efficacité, et de présider la commission d'examen de cette thèse.

Monsieur J.C. STOCLET, professeur à l'Université Louis Pasteur de Strasbourg, a bien voulu me conseiller et porter une attention particulière à cette thèse. Qu'il trouve ici l'expression de ma respectueuse reconnaissance.

Messieurs les Professeurs Y. CHERRUAULT et J.L. FUNCK-BRENTANO ont accepté de s'intéresser à ce travail et de participer au jury de la thèse. Qu'ils reçoivent mes respectueux remerciements.

Monsieur le Professeur H. MATHIEU, directeur de ce travail, a bien voulu me conseiller et me faire bénéficier de sa haute compétence dans le domaine du métabolisme phospho-calcique. Qu'il reçoive ici mes sincères remerciements.

Ce travail a été réalisé au Commissariat à l'Energie Atomique, dans la section de Toxicologie et de Pathologie Expérimentale, du Docteur J. LAFUMA, qui en a suivi toutes les étapes avec compétence et efficacité. Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Que tous les membres de cette section, du Laboratoire de Statistiques Analytiques quantitatives du Commissariat à l'Energie Atomique et de l'Unité de recherches INSERM sur le métabolisme hydro-minéral, qui ont contribué par leur aide et leur sympathie à me permettre de réaliser ce travail, trouvent ici l'expression de ma très sincère reconnaissance.

S O M M A I R E

Pages

INTRODUCTION 6

PREMIERE PARTIE : ANALYSE DE LA COURBE DE DECROISSANCE DE LA RADIOACTIVITE SANGUINE CALCIQUE, PENDANT LES SIX PREMIERES HEURES. 10

TECHNIQUE ET MATERIEL EXPERIMENTAUX A

A - I - DONNEES SANGUINES 11

I - 1 Technique d'obtention

I - 1.1 Principe général

I - 1.2 préparation de l'animal et de l'enregistrement continu

I - 1.3 Obtention de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine calcique

a) technique d'enregistrement
b) mise en forme des données
c) technique de tracé de courbe
d) précision de la méthode.

I - 2 Matériel expérimental animal.

A - II - DONNEES OSSEUSES 16

II - 1 Technique d'obtention

II - 1.1 Principe

II - 1.2 Recherche d'un facteur "k" de proportionnalité entre le fémur et le squelette.

II - 2 Matériel expérimental animal.

TRAITEMENTS MATHEMATIQUES DES DONNEES B

B - I - ANALYSE DES COMPOSANTES PRINCIPALES 21

I - 1 Principe général

I - 2 Description de l'analyse

I - 3 Application aux cinétiques sanguines.

Pages

B - II - ANALYSE "COMPARTIMENTALE" 25

II - 1 Principe, hypothèses de base et utilisation dans la littérature.

II - 2 Technique classique de l'analyse compartimentale

II - 3 Technique d'ajustement de BAZIN J.P.

II - 3.1 Principe général

II - 3.2 processus de convergence

II - 3.3 avantages et limites de la méthode

II - 3.4 technique d'entrée des données

B - III - ANALYSE PAR LA FONCTION DE PUISSANCE 33

APPLICATION DES METHODES D'ANALYSE CHEZ LE RAT NORMAL C

C - I - ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES 34

Résultats et conclusions

C - II - ANALYSE COMPARTIMENTALE 35

II - 1 Ajustement des données sanguines

II - 1.1 Modèle compartimental : =Somme de deux exponentielles

a) Modèle à 2 compartiments et 4 coefficients
b) Modèle à 2 compartiments et 5 coefficients

II - 1.2 Modèle compartimental : somme de 3 exponentielles

a) Modèle à 3 compartiments et 6 coefficients
b) Modèle à 3 compartiments et 8 coefficients
c) Modèle à 3 compartiments et 7 coefficients

II - 2 Ajustement simultané des données sanguines et osseuses.

Conclusion.

C - III - ANALYSE PAR LA FONCTION DE PUISSANCE 47

III - 1 Test de la validité de l'utilisation de la fonction de puissance.

III - 2 Résultat de l'analyse des courbes par la fonction de puissance.

Pages

MESURE D'UN COEFFICIENT " " DE FUITE DU RADIO-CALCIUM HORS DU POOL SANGUIN, EN FONCTION DE DIVERS ETATS PATHOLOGIQUES — D

D - I Matériel animal et conditions pathologiques étudiées — 54

D - II - METHODES D'ANALYSE 55

II - 1 L'analyse en composantes principales

II - 2 L'analyse par la fonction de puissance et par des fonctions simples.

D - III - RESULTATS 59

III - 1 Analyse en composantes principales

III - 1.1 Analyse globale de la courbe

III - 1.2 Analyse par portions de courbe

III - 1.3 Comparaison des cinétiques calciques sanguines et des cinétiques d'éléments différents.

III - 2 Ajustements sur une fonction de puissance et deux modèles mathématiques simples.

III - 3 Recherche d'une corrélation entre les données sanguines et les données osseuses

Commentaires.

DEUXIEME PARTIE : ANALYSE DE LA COURBE DE DECROISSANCE DE LA RADIOACTIVITE SANGUINE CALCIQUE PENDANT LES TRENTE PREMIERES MINUTES. — 69

- MESURE DE LA CLEARANCE CALCIQUE
- MESURE D'UN PARAMETRE DE CAPTURE RAPIDE EN CALCIUM PAR LE SQUELETTE.

METHODES D'ANALYSE — A — 69

A - I - LA " METHODE A DEUX ISOTOPES " 70

I - 1 Principe général

I - 2 Choix de l'élément représentatif de la dispersion du radiocalcium.

I - 2.1 Critères de choix

I - 2.2 Justification du choix.

Pages

I - 3 Modèle utilisé

I - 4 Méthode de calcul de la clearance et du paramètre de capture rapide du calcium

A - II - ANALYSE COMPARTIMENTALE

en vue d'une comparaison avec la méthode à deux isotopes 80

TECHNIQUES ET MATERIEL EXPERIMENTAUX B

B - I - TECHNIQUE D'OBTENTION DES DONNEES SANGUINES 82

B - II MATERIEL ANIMAL EXPERIMENTAL 82

B - III DOSAGES ET COMPTAGES 83

RESULTATS CHEZ L'ANIMAL NORMAL C

C - I METHODE A DEUX ISOTOPES 85

I - 1 Vérification indirecte de l'identité des cinétiques de dispersion du ^{24}Na et du ^{45}Ca : comparaison des cinétiques sanguines du ^{24}Na et du DTPA-^{147}Pm

I - 2 Vérifications directes de la validité du choix du ^{24}Na, comme élément représentatif de la dispersion du ^{47}Ca : étude de l'évolution simultanée des cinétiques du ^{24}Na et du ^{47}Ca dans :

(le sang
(le cerveau
(le foie
(le muscle
(le squelette

I - 3 Vérification mathématique de la validité du choix du ^{24}Na, en tant qu'élément représentatif de la dispersion du radiocalcium.

Commentaires.

Pages

I - 4 Calcul de la clearance et d'un paramètre de capture du calcium par le squelette

Commentaires.

C - II - ANALYSE COMPARTIMENTALE 103

II - 1 Modèle 1

II - 2 Modèle 2

II - 3 Modèle 3

II - 4 Modèle 4

ANALYSE DE LA SIGNIFICATION PHYSIOLOGIQUE DES PARAMETRES DE LA CLEARANCE CALCIQUE ET DE CAPTURE RAPIDE DU CALCIUM PAR LE SQUELETTE, LORS DE LEUR ETUDE DANS DIVERS ETATS PATHOLOGIQUES.

D - I MATERIEL EXPERIMENTAL ANIMAL

et conditions pathologiques étudiées 109

D - II RESULTATS 110

II - 1 la parathyroïdectomie

II - 2 la carence en phosphore

II - 3 la surcharge en NH_4Cl

II - 4 la carence en calcium, isolée

II - 5 l'action de la cortisone

II - 6 l'action d'un diphosphomate (EHDP)

D - III COMMENTAIRES 116

COMMENTAIRES GENERAUX CONCERNANT LA "METHODE A DEUX ISOTOPES 3 E -121

CONCLUSION. ..... -123

INTRODUCTION

Il existe un grand nombre de méthodes d'étude du métabolisme calcique. En ce qui concerne les analyses cinétiques sanguines du calcium, elles sont effectuées depuis longtemps à l'aide de traceurs radioactifs, afin d'apprécier d'une manière plus dynamique, les problèmes posés par l'homéostasie calcique d'une part, et de calculer les paramètres spécifiques du métabolisme, d'autre part. Etant donné que le squelette contient la majeure partie du calcium des vertébrés, 99 % chez le rat, les études cinétiques permettent ainsi d'apprécier les mouvements du calcium entre le plasma et le squelette, et plus particulièrement les processus de capture du calcium par le squelette.

Lorsque du calcium radioactif est injecté dans les veines d'un mammifère, l'activité spécifique du plasma décroît selon une fonction du temps. Deux solutions générales ont été proposées pour analyser cette fonction dépendante du temps ; la première considère cette fonction comme une somme d'exponentielles, la seconde fait intervenir la fonction de puissance. Dans le premier cas, la méthode d'analyse utilisée est l'analyse dite "compartimentale", ainsi appelée car les résultats sont interprétées au moyen de la notion de compartiments, chaque compartiment étant un volume où entrent et d'où sortent à chaque instant certaines quantités de calcium. L'étude de la courbe est effectuée pendant un laps de temps de l'ordre de trois jours, chez le rat, un temps plus long nécessitant l'adjonction d'un nouveau terme exponentiel. La plus grande partie de la radioactivité injectée au rat, se retrouve dans le squelette, après un temps de latence, pendant lequel il est possible d'évaluer les échanges de calcium entre le plasma sanguin et d'autres tissus dans lequel le traceur pénètre (18, 53, 109). AUBERT J.P.et MILHAUD G. (6) ont mis à profit ce fait, en 1960, pour désigner par le terme de "fonds commun" calcique, la masse de calcium dont la radioactivité spécifique devient égale à celle du plasma sanguin, dans un temps qui est de l'ordre de deux heures, chez le rat. C'est à partir de ce moment, réalisant un état de "steady state", que ces auteurs calculent les paramètres du turn over osseux calcique : en particulier, un paramètre V_o^+ , représentatif de la fixation du calcium dans le squelette. Un grand nombre d'auteurs ont ainsi utilisé l'analyse compartimentale (5, 20, 49, 78) pour quantifier de tels paramètres, chez l'homme ou chez le rat surtout, et la multiplicité des modèles compartimentaux rend compte de la diversité des travaux publiés.

D'autres auteurs ont préféré utiliser la fonction de puissance, pour analyser la courbe de décroissance de la radioactivité calcique plasmatique. Dès 1962, ANDERSON J. (3) suggère que la méthode d'analyse par la fonction de puissance, pourrait être utilisée en tant que méthode empirique, pour décrire mathématiquement la dynamique du calcium dans le sang, et en 1963, MARSHALL J.H. (73) suggère également que cette méthode pourrait permettre une meilleure interprétation des données sanguines. Pour ces auteurs, il est en effet impossible qu'une simple somme d'exponentielles puisse rendre compte de ces données. En 1967, TOMLINSON R.W.S. (112) et coll. suggèrent qu'une première fonction de puissance pourrait être représentative des échanges rapides de calcium dans les tissus mous et la fraction rapidement échangeable de l'os, tandis qu'une seconde, cet équilibre rapide une fois terminé, serait plus représentative du métabolisme osseux calcique plus lent. En 1971, BULLAMORE et coll. (22), proposent un modèle de pool en expansion continue, à partir duquel s'effectue une fuite, correspondant à l'excrétion et à la minéralisation osseuse. Cette fuite n'intervient de façon perceptible qu'après un certain temps, au terme duquel la courbe est alors ajustée sur une fonction combinée, somme d'une fonction de puissance et d'une fonction exponentielle, cette somme étant représentative de la fuite hors du pool. L'excrétion pouvant être mesurée expérimentalement, la fraction de fuite hors du pool, due à la minéralisation, peut dès lors être connue.

Dans cette étude, le taux de minéralisation n'est donc calculé qu'après un certain temps de latence pendant lequel s'effectuent des échanges rapides calciques.

Enfin, MARSHALL J.H. (74, 75, 76) a montré qu'une modification de l'analyse par la fonction de puissance pouvait permettre d'ajuster les données sanguines calciques expérimentales obtenues pendant quarante ans chez l'homme. Son ensemble d'équations permet de calculer, à chaque instant, un pool calcique E (t) et un paramètre A (t) ou taux d'addition ; ce taux d'addition est la somme du taux d'apposition calcique et du taux d'augmentation calcique : le taux d'apposition traduirait un accroissement du volume élémentaire osseux, tandis que le taux d'augmentation traduirait un accroissement de la densité calcique de ce même volume élémentaire osseux. Les valeurs de E (t) et de A (t) évoluent en sens inverse en fonction du temps de la mesure, et leurs valeurs respectives dépendent donc du moment où sont effectuées ces mesures. MARSHALL J.H. a surtout utilisé cet ensemble d'équations afin de mieux représenter le comportement à long terme des alcalinoterreux. Ce type d'équations

a été repris par d'autres auteurs (63) pour essayer de calculer à court terme, un paramètre A (t) ou taux de transfert calcique, représentatif d'une fuite globale hors du pool E (t). S'ils sont calculés au bout de la deuxième heure, ces paramètres subissent des variations moins importantes en fonction du temps de la mesure, car la courbe atteint un "pseudo équilibre", et peuvent alors apporter des informations quantitatives concernant le métabolisme calcique osseux.

D'autres auteurs, BAUER et Coll. (9), n'ont utilisé ni l'analyse compartimentale ni l'analyse par la fonction de puissance et calculent un paramètre d'accrétion qui serait la somme du taux d'apposition et du taux de minéralisation secondaire. Les temps de calcul d'un tel paramètre, doivent être suffisamment tardifs pour permettre un meilleur équilibre du pool, et suffisamment précoces pour ne pas être perturbés par le retour dans le sang du radiocalcium déposé dans le squelette.

En définitive, pour calculer leur paramètre de fixation (V_o+), d'accrétion, de minéralisation, ou d'addition, du calcium sur le squelette, les analyses précédemment décrites, nécessitent d'attendre un certain temps pour que la radioactivité spécifique sanguine calcique ait atteint un "pseudo équilibre".

Pour atteindre cet état, un certain temps de latence s'écoule, pendant lequel le processus de capture du radiocalcium par le squelette est peu étudié, parce qu'il n'est pas dominant. Cependant, un tel processus de capture doit exister dès les premiers instants suivant l'injection du traceur, s'ajoutant ainsi au processus de dispersion rapide du radiocalcium dans le squelette et les tissus mous.

C'est pourquoi nous avons cherché à étudier la partie initiale de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine calcique, afin de savoir, si dès les temps précoces, il était déjà possible de mettre en évidence un paramètre de capture rapide du calcium par le squelette, de tester ses éventuelles variations en fonction de divers états pathologiques, et de le confronter au paramètre de fixation V_o+ déjà mesuré dans la littérature.

Etant donné que la portion initiale de la courbe décroît très rapidement, un grand nombre de prélèvements s'impose. La difficulté inhérente à l'obtention de ce grand nombre de prélèvements a été résolue en effectuant un enregistrement continu magnétique de l'évolution de la radioactivité sanguine.

Dans un premier temps :

la courbe de décroissance sera étudiée pendant les six premières heures chez le rat. L'analyse en composantes principales, permettra sans hypothèse a priori, de définir le nombre de paramètres essentiels caractérisant la courbe, et d'orienter l'étude vers un choix de modèles expérimentaux. Ceux-ci seront testés par la méthode de tirage au hasard de MONTE CARLO. Devant les résultats obtenus, nous utiliserons la fonction de puissance pour mettre en évidence, dès les deux premières heures, une différenciation des groupes de rats soumis à diverses conditions pathologiques. Nous serons ensuite amenés à mettre au point une nouvelle méthode qui permet, dès les trente premières minutes après l'injection du radiocalcium, de quantifier un paramètre de capture rapide du calcium par le squelette.

PREMIERE PARTIE

ANALYSE DE LA COURBE DE DECROISSANCE DE LA RADIOACTIVITE SANGUINE CALCIQUE PENDANT LES SIX PREMIERES HEURES

- A -

TECHNIQUES ET MATERIEL EXPERIMENTAUX

A-I . LES DONNEES SANGUINES

I/1 - Techniques d'obtention des données sanguines.

I - 1.1 - Principe général.

Le principe général est d'effectuer un enregistrement continu de la radioactivité sanguine calcique, sur bande magnétique, pendant les six premières heures suivant l'injection intraveineuse du Radiocalcium.

I - 1.2 - Préparation de l'animal et de l'enregistrement continu.

L'animal est anesthésié avec une solution de Nembutal à 5 %, à raison de 0,2 ml pour 100 g de poids, en injection sous-cutanée. La courbe de décroissance de la radioactivité sanguine est enregistrée à partir d'un circuit carotido-carotidien. La jonction carotido-carotidienne a été choisie de préférence à la jonction carotido-jugulaire, car elle pertube moins l'irrigation cérébrale.

Sur l'animal, on procède à l'épilation du creux sous-sternal. Puis une incision médiane, longitudinale, d'environ 1,5 cm est effectuée dans la partie du cou située entre la machoire inférieure et le creux sus-sternal. Les nodules lymphatiques cutanés et les glandes salivaires sont réclinés après avoir été séparés selon la ligne médiane en cherchant le plan de clivage et sans faire saigner. Dans le losange limité en haut par les muscles hyo-maxillaires et en bas par les muscles sterno-mastoïdiens, apparaît le plan musculaire sterno-mastoïdien, parallèle à la trachée.
Le muscle sterno-hoïdien est soulevé, dilacéré longitudinalement sur la ligne médiane. De haut en bas sont découverts : le larynx, l'isthme thyroïdien et la trachée.
Une trachéotomie est effectuée, afin de faciliter la respiration de l'animal. Puis, une carotide du rat est isolée entre deux pinces, sur une longueur de 12 à 15 mm, placée sur une petite languette de carton, incisée une première fois vers son extrémité céphalique et le tube de polythène taillé en biseau est inséré dans la lumière et maintenu en place par une simple ligature. La même opération est réalisée pour l'autre tube de polythène sur la même carotide du côté thoracique. La languette de carton

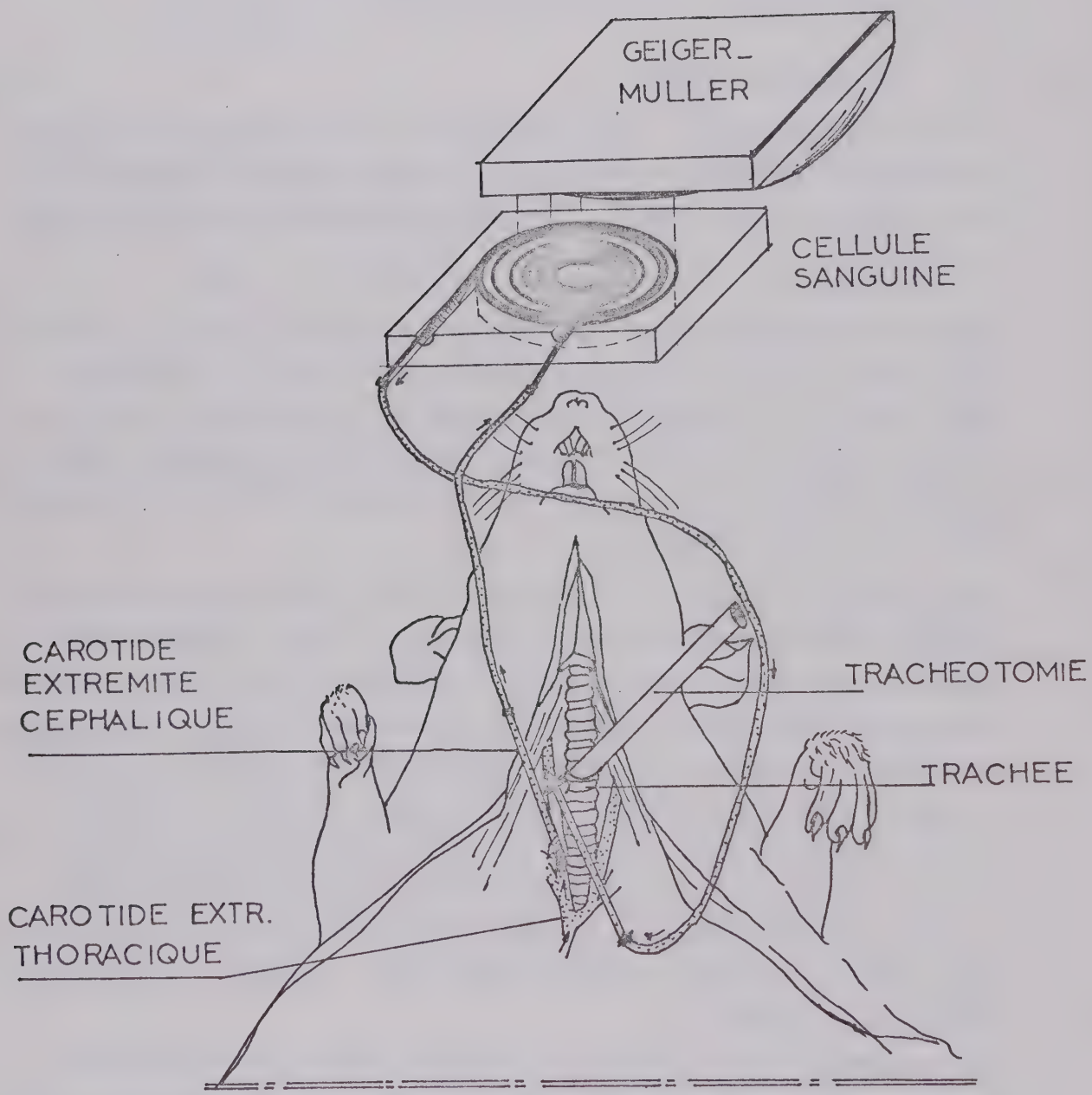


Figure .1. Dispositif experimental

est enlevée, puis la pince distale, enfin la pince proximale.La circulation extra-corporéale est ainsi rétablie, et si aucun obstacle provoqué par une pliure ou une torsion de la carotide ne se produit, le sang chasse complètement le sérum physiologique en quelques secondes.

Le temps opératoire n'excède pas 10 à 15 minutes et il est peu choquant pour le rat, préalablement anesthésié.
Il est ainsi possible de suivre des enregistrements pendant plusieurs heures, l'animal étant sacrifié à la fin de l'expérience.

Le circuit sanguin est formé d'une "cellule sanguine" et de fins tubes de polyéthylène emboités les uns dans les autres (Fig. 1). La "cellule sanguine" est constituée d'un tubule en polyéthylène de 1,14 mm de diamètre intérieur, enroulé plusieurs fois sur lui-même et maintenu sur une plaquette en plastique dur. De cette cellule sanguine vers la carotide du rat, on rencontre successivement 3 cm d'un catheter de 0,86mm de diamètre intérie puis une dizaine de centimètres d'un catheter de 0,86mm de diamètre intérieur ; leur agencement permet une bonne conservation de la pression sanguine. Ce montage très simple permet de réaliser une circulation facile et fluide, en extravasant une faible quantité de sang (de l'ordre de 0,4 cm3). Le circuit est préalablement rempli de sérum physiologique hépariné (100 u.i d'héparine par animal) afin d'empêcher toute coagulation éventuelle du sang circulant dans le circuit sanguin extra-corporel, au cours des mesures.Une technique un peu différente, mais fondée sur des principes comparables, a déjà été utilisée (80).
Pour des expériences de longue durée (de l'ordre de 6 heures), il convient de s'assurer que le sang circule toujours de la même manière dans la "cellule sanguine". Pour ce faire, diverses méthodes fondées sur l'enregistrement de différences de pressions ou de températures sur le circuit extra-corporel, ont été essayées, mais n'ont donné que des déboires. Une méthode plus simple consiste à introduire dans le cathéter à la sortie de la "cellule sanguine", une petite bulle d'air et à suivre son cheminement. On peut répéter l'opération plusieurs fois, sans inconvénient et constater, sinon mesurer avec précision, que le débit qui est proportionnel à la vitesse de déplacement de la bulle, n'a pas sensiblement varié.
Cette technique d'enregistrement continu ne peut être pratiquée que chez l'animal anesthésié. Il est généralement reconnu que l'anesthésie entraîne des modifications de divers facteurs physiologiques (63). Cependant, lorsqu' elle est effectuée dans les mêmes conditions pour chaque animal, témoin ou

pathologique, elle peut permettre une comparaison valable de différents groupes d'animaux. Dans le cas particulier d'enregistrement de la radio-activité sanguine calcique, nous avons vérifié que la calcémie n'était pas modifiée de façon significative pendant la courte durée de l'expérience (*). De plus, la technique d'enregistrement continu, réalisable grâce à l'anesthésie, évite chez le rat, l'obligation de pratiquer un grand nombre de prélèvements sanguins nécessaires pour obtenir une précision correcte des mesures, mais susceptibles de provoquer une perte non négligeable du volume plasmatique. L'anesthésie, enfin, permet d'éviter le stress provoqué à chaque prélèvement effectué chez un animal aussi petit que le rat, et régularise son activité circulatoire.

I - 1.3 - Obtention de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine calcique.

Le radiocalcium, sous forme de chlorure, en solution isotonique, est injecté dans la veine fémorale du rat. Le volume total administré est de l'ordre de 0,1 à 0,2 ml

a) Technique d'enregistrement

La mesure continue de l'évolution de la radioactivité sanguine est effectuée, pour des raisons d'ordre technique, à l'aide d'un détecteur pour le comptage des rayonnements β^- (compteur Geiger Muller). [illegible]. Le compteur est placé directement sur la cellule sanguine précédemment décrite. Le radiocalcium utilisé est de ^{45}Ca, et l'énergie de son rayonnement β^- est de 250 KeV. La faible énergie de ce rayonnement impose une administration intraveineuse de l'ordre de 50 µCi, mais la méthode d'analyse étant appliquée aux temps courts après l'introduction du traceur, la dose totale d'irradiation délivrée au squelette est négligeable. Les impulsions électriques obtenues en sortie du compteur Geiger Muller sont enregistrées en continu sur bande magnétique, pendant le temps choisi. La base arbitraire d'un temps de 80 secondes est choisie en fonction des dispositifs techniques de mesure.

b) La mise en forme des données sanguines

La mise en forme des données se fait sur analyseur multicanaux et leur traitement est entièrement effectué sur ordinateur (IBM 360-91).

(*) *La calcémie a été mesurée au début de l'anesthésie, aux environs de la trentième minute, et, au bout de deux heures, à partir de prélèvements sanguins (de l'ordre de 0,1 ml) effectués dans le circuit extra corporel.*

Ces données sanguines, à raison d'un point toutes les 80 secondes sont transcrites sur cartes perforées. L'adjonction à ces données d'un programme FORTRAN IV, permet d'obtenir en sortie, les nouveaux points expérimentaux corrigés d'un mouvement propre ambiant et exprimés en pourcentage du maximum de la courbe.
270 points expérimentaux sont donc obtenus pour chaque animal.
Nous avons choisi ce mode d'expression des données, plutôt que d'extrapoler la courbe pour connaître la radioactivité initiale, afin d'éviter le facteur d'erreur consécutif au processus d'extrapolation. De toute façon, l'expression des résultats en fonction du maximum de la courbe qui a lieu entre la 50e et la 70e seconde, chez le rat, ne modifie en rien l'allure générale de la courbe.

c) La technique de tracé de courbe.

La technique de tracé de courbe par l'ordinateur est la suivante : le point expérimental de valeur maximale est coté à 100, le point minimal à 0. Et tous les points intermédiaires sont affectés d'une valeur exprimée en % de la différence. Comme le tracé de courbe dilate les échelles au maximum, il ne peut donc donner que l'impression d'une grande dispersion sur les points expérimentaux d'une pente faible ou horizontale. Dans ce cas, si des limites relatives aux points maximal et minimal sont imposées, l'importance de la dispersion est dès lors atténuée, sans aucune modification du coefficient de pente.

Les symboles du tracé de courbe par l'ordinateur, sont expliqués par les exemples suivants :

ABCISSES
MAX 2,999 E 01 ⟹ Valeur maximale sur l'échelle des abcisses
$= 2{,}999 \times 10^{1} = 29{,}9 \simeq 30$

Si l'échelle des abcisses est une échelle de temps, avec une base de 80 secondes, le 30e point correspond à 40 mn.

MIN 6,067 E -01 ⟹ Valeur minimale sur l'échelle des abcisses
$= 6{,}067 \times 10^{-1} = 0{,}6 \simeq 1$ mn

Le symbole E o o correspond à 1

d) Précision de la méthode

Les données sanguines peuvent s'obtenir soit à partir d'un petit nombre de prélèvements effectués à des temps fixés, soit à partir d'un enregistrement continu. La deuxième solution a été choisie car même si

elle impose une erreur statistique plus élevée sur chacun des points expérimentaux, ceux-ci sont obtenus en très grand nombre et sans chronologie prédéterminée. Par ailleurs, une précision comparable à celle obtenue habituellement dans la technique de prélèvements (de l'ordre de 8 %) peut être atteinte à la condition d'effectuer un lissage polynomial qui atténue l'erreur statistique sur l'ensemble des points.

I - 2. Matériel expérimental.

Dans un premier temps 5 rats $\sigma^{\prime}$ de race Wistar, d'un poids moyen de 280 $\pm$ 8 g, ingérant un régime normal, ont été utilisés dans le cadre des différentes analyses mathématiques de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine calcique, pendant les six premières heures après l'injection intraveineuse du ^{45}Ca.

Dans un deuxième temps, des séries de rats soumis à diverses conditions pathologiques seront utilisées. Ce matériel sera décrit lors de l'étude des courbes obtenues en fonction de ces conditions pathologiques.

A. II - LES DONNEES OSSEUSES

II/1 - Techniques d'obtention des données osseuses.

II - 1 . 1 - *Principe*

Le fémur est choisi comme élément de référence, permettant de connaître par extrapolation, la quantité de radiocalcium captée par le squelette, en fonction de la quantité totale administrée à l'animal. En effet, si la dissection d'un squelette entier représente, pour chaque animal, un travail fastidieux, le prélèvement d'un fémur est au contraire d'une grande simplicité. Nous allons montrer dans le paragraphe suivant, qu'il existe un facteur "k" de proportionnalité entre la radioactivité calcique déposée dans le squelette et la radioactivité déposée dans le fémur, quel que soit le temps de la mesure, jusqu'à la sixième heure après l'injection du traceur.

La rédioactivité du fémur (^{47}Ca) est mesurée à l'aide d'un

TABLEAU I - CALCUL DU FACTEUR DE CORRELATION ENTRE LE FEMUR ET LE SQUELETTE PAR MESURE DE LA DEPOSITION RESPECTIVE DU ^{47}Ca.

N° RAT SHERMAN 280g.	$\frac{\text{RADIOACTIVITE } ^{47}Ca \text{ SQUELETTE}}{\text{RADIOACTIVITE } ^{47}Ca \text{ FEMUR}}$	TEMPS SACRIFICE APRES INJECTION
1	22,1	10 Mn
2	24,0	10 Mn
3	22,5	30 Mn
4	23,3	40 Mn
5	24,7	1 H.
6	23,9	1 H.
7	22,4	2 H.
8	23,7	2 H.
9	24,6	4 H.
10	22,6	4 H.
11	23,4	6 H.
12	22,7	6 H.

$$\bar{M} = \underline{23,3} \pm 0,3 \quad (\sigma)$$

cristal à iodure de sodium. Et la radioactivité totale en ^{47}Ca, administrée à l'animal, est mesurée à l'aide d'un whole body counter.

II - 1.2. Calcul d'un facteur "k" de proportionnalité.

Le principe est de séparer chimiquement le squelette du rat de ses organes et de ses tissus mous , de comparer la radioactivité fixée sur le fémur à la radioactivité fixée sur le squelette, et de vérifier qu'il existe un rapport constant entre ces deux valeurs.

Le rat reçoit une injection intraveineuse d'une solution physiologique de 3 µCi de $^{47}CaCl_2$, puis est sacrifié, en temps donné, par une injection intraveineuse de KCl sursaturé, qui entraîne une mort immédiate. Tous les organes sont enlevés, ainsi que la peau. Seuls restent le squelette et les tissus mous. Le rat est plongé dans une solution qui permet la dissolution des tissus mous, et dont la composition est la suivante :

(NaOH à 50 %	: 240 cm3	
(GEVIC	250 cm3	
(CO_3Na_2	80 g	préalablement dissous dans l'eau chaude pour compléter à 2 litres
(H_2O		

La solution est placée dans un bain de sable à 80°, pendant sept heures environ. La séparation des tissus mous et du squelette s'effectue en passant la solution sur un fin tamis. Les différents éléments du squelette sont recueillis sur le tamis et séchés pendant une quinzaine d'heures à 100° dans une étuve. Les fémurs sont séparés du squelette et pesés séparément. Les radioactivités respectives des fémurs et du squelette sont mesurées.

Les résultats sont exprimés dans le tableau (Tab.1).
Nous constatons qu'il existe un rapport constant de 23,3 entre la Radioactivité captée par le squelette et celle captée par le fémur.
La valeur de ce rapport est comparable à celle obtenue par AEBERHARDT et Coll. (1) qui ont étudié la corrélation entre la radioactivité du ^{144}Ce fixée sur le fémur, et la radioactivité fixée sur le squelette entier ; elle est également proche de celle obtenue par HUMPHREYS E.R. (66) dans le cas du plutonium.

Nous avons préalablement vérifié que la méthode de séparation chimique que nous avons utilisée n'entraînait pas le relargage du ^{47}Ca capté par le squelette vers la solution alcaline qui permet la dissolution des tissus mous : en effet, un fémur et un tibia, prélevés sur un rat ayant reçu 3µCide ^{47}Ca, et auxquels sont appliquées les différentes

TABLEAU II - % DEPOSITION DU ^{47}Ca DANS LE SQUELETTE DE RAT, PENDANT LES SIX PREMIERES HEURES APRES INJECTION.

TEMPS DU SACRIFICE APRES L'INJECTION	% RADIOACTIVITE INITIALE DEPOSEE DANS LE SQUELETTE
10' (n* = 3)	38,2 ± 1,3
30' (n = 3)	45,3 ± 1,4
1 H. (n = 3)	54,1 ± 0,8
2 H. (n = 3)	57,9 ± 0,7
4 H. (n = 3)	65,1 ± 0,3
6 H. (n = 3)	70,1 ± 0,3

* n = nombre d'animaux par point experimental.

phases du procédé précédemment décrit, conservent leur radioactivité initiale ; il est vérifié en même temps qu'il n'existe aucune contamination du liquide alcalin permettant la dissolution des tissus mous.

II - 2- Matériel expérimental animal.

Les dossées osseuses.

Les données osseuses sont obtenues à raison de quatre animaux par point expérimental. Les rats sont de race WISTAR ♂ , d'un poids moyen de 280 grammes. Les temps choisis pour les sacrifices ont été de : 10 mn, 30 mn, 1 h, 2 h, 4 h et 6 h après l'injection du radioélément.

Dans le Tableau 2 sont exposés les résultats concernant les pourcentages de la radioactivité initiale, déposés dans le squelette.

Nous obtenons ainsi une somme de données sanguines et osseuses qui, une fois mises en forme et transcrites sur cartes perforées, constituent un matériel de base susceptible d'être traité par n'importe quelle analyse mathématique.

- B -

TRAITEMENTS MATHEMATIQUES DES DONNEES SANGUINES

Il existe deux grandes sortes d'analyse mathématique des données :

1 - l'analyse multidimensionnelle, essentiellement statistique, qui permet de traiter en bloc et simultanément toutes les données relatives à un ensemble d'individus.
Lorsque l'objectif est de classer et de différencier un ensemble d' observations , , une technique très intéressante est l'analyse en composantes principales.

2 - l'analyse unidimensionnelle, qui permet de condenser en un ou plusieurs paramètres, toute l'information supportée par l'ensemble des données caractérisant un individu. Par exemple : résolution d'une courbe à l'aide d'un modèle linéaire ou compartimental.
Le ou les nouveaux paramètres peuvent être ensuite traités par une analyse statistique traditionnelle (test de Student, test du X^2), pour différencier les individus.

Dans un premier temps, pour l'étude de nos données sanguines, il nous a paru intéressant d'utiliser l'analyse en composantes principales, car elle traite en bloc toutes les données brutes, sans aucune hypothèse a priori. Elle apporte ainsi des informations qui permettent d'orienter vers une technique d'analyse mathématique individuelle.

Dans un deuxième temps, nous avons utilisé comme analyse mathématique individuelle, l'analyse compartimentale, puis l'analyse par la fonction de puissance.

B.I - ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES

HOTELLING H. (65) crée le premier les bases de l'analyse en composantes principales. Puis ANDERSON T.W. (4) fait une introduction à l'analyse statistique multidimensionnelle. Pour réagir devant l'utilisation de l'analyse statistique traditionnelle, BENZECRI (13, 47) incorpore ces bases dans ses "Leçons sur l'analyse statistique des données multidimentionnelles ". Des exemples de l'utilisation de l'analyse en composantes principales, sont fournis par différents auteurs (12), et

actuellement, une analyse globale des données multidimensionnelles est exposée dans le livre de CAILLIEZ (25).

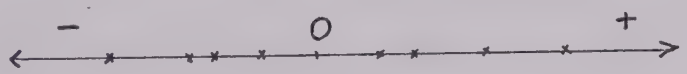
I/1 - PRINCIPE GENERAL

Cette méthode d'analyse utilise directement les données brutes ou caractères définissant un individu. Elle a pour but de ramener le nombre " N " de ces caractères à un nombre " p " de paramètres, tel que $p<N$, tout en connaissant exactement la perte d'information entraînée par la réduction. Cette réduction s'effectue sans aucun modèle a priori.

Les nouveaux paramètres, combinaisons des caractères initiaux, sont appelés composantes principales. Chacune de ces composantes supporte un certain pourcentage d'information et son importance relative en dépend. L'analyse en composantes principales permet ainsi le classement et la différenciation des individus en fonction des composantes qui les différencient le plus.

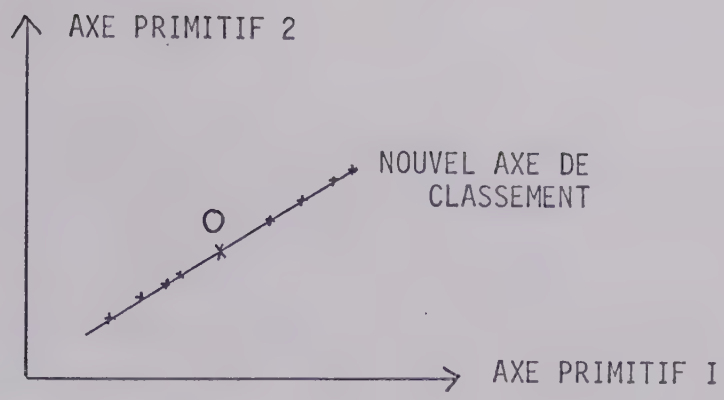
I/2 - DEFINITION DES COMPOSANTES

Supposons que les individus d'un groupe doivent être classés selon un seul caractère, par exemple la taille. Ces individus peuvent alors être ordonnés sur un seul axe qui représentera l'échelle des tailles. L'origine des tailles est choisie comme étant égale à la moyenne des tailles des individus, ces derniers se caractérisant dans le groupe par des valeurs positives ou négatives, suivant leur place par rapport à la moyenne



S'il existe deux caractères pour classer les individus du groupe, il y aura deux axes et chaque individu sera représenté par un point qui tiendra compte de la valeur des deux caractères. Le groupe d'individus sera donc représenté par un nuage de points.

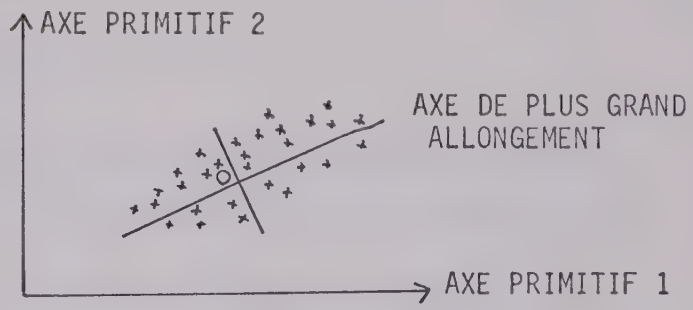
a) si les deux caractères sont proportionnels, le nuage de points se confondra avec une droite. Cette droite peut servir de nouvel axe de classement sur lequel la moyenne des valeurs servira de nouvelle origine



L'angle que fait la droite avec les deux axes primitifs tient compte de l'importance de chacun des deux caractères et l'information est présumée sans perte. Connaissant la position de la droite dans le plan et la place de chaque individu sur la droite, on peut recalculer exactement les deux caractères d'origine.

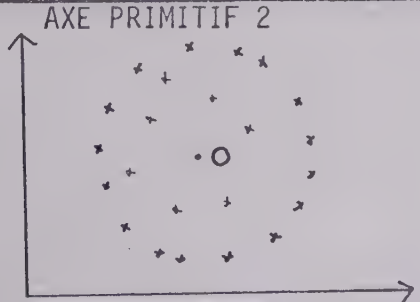
b) Si les deux caractères ne sont pas directement proportionnels

les individus sont répartis dans un nuage de points, plus ou moins allongé Ce nuage est organisé autour de deux axes, dont l'origine est au centre de gravité du nuage.



Les individus peuvent se classer par rapport à ces deux nouveaux axes, sans qu'il y ait perte d'information. Mais il est aussi possible de projeter chaque individu sur l'axe de plus grand allongement du nuage, et de classer les individus par rapport à cet axe, qui est une composante des deux axes primitifs. Une partie de l'information est dès lors, perdue, puisque les données originales ne peuvent être recalculées, mais l'analyse est simplifiée. Et comme il est possible de calculer l'importance de la perte d'information, une estimation de la validité du nouveau paramètre de classement est alors possible.

c) Lorsque les deux caractères sont totalement indépendants



le nuage de points est un cercle et dans ce cas, aucune simplification du système n'est donc possible.

Cette méthode peut se généraliser dans un espace à 3 ou N dimensions ; elle permet ainsi la classification des individus, en réduisant le nombre de caractères définissant ces individus et en connaissant la perte d'information entraînée par la réduction. Les nouveaux axes sont une combinaison des paramètres d'origine, et sont appelés composantes principales.

Chaque individu est ainsi un point dans un espace à N dimensions. Comme l'on ne peut voir que des espaces $\leq 3N$, l'*Analyse en Composantes Principales* a pour but de chercher le plan la plus "proche" de tous ces points caractérisant les individus.

Pour définir une *proximité*, on choisit une *distance*.La distance choisie peut être la distance euclidienne classique

$$d(x, y) = \sum_{1}^{N} (x_i - y_i)^2$$

x étant par exemple l'individu 1
y étant l'individu 2
x_i le caractère de l'individu x
y_i le caractère de l'individu y

Il est souvent intéressant de pondérer chacun des caractères par leur écart type (caractère réduit) pour s'affranchir des unités de mesure (cas de la matrice de corrélation)

La proximité d'un sous espace W ((plan) au nuage, se traduit par le moment d'Inertie :

$$I_W = \sum_{1}^{n} p_i \quad \| \beta_i \|^2$$

n = nombre d'individus
p_i = importance de l'individu i
β_i = projection de l'individu i sur le plan
(somme des carrés des écarts projetés sur le plan)

On doit ensuite maximiser le moment d'Inertie. Les axes de plus grande inertie (ou composantes principales) sont donnés par les vecteurs propres de la matrice de covariance ou de corrélation, c'est-à-dire les vecteurs associés aux plus grandes valeurs propres.

I - 3 - Application à l'analyse des cinétiques sanguines.

L'analyse en composantes principales implique des mesures expérimentales rigoureusement identiques pour chaque animal. Ce point a été résolu, puisque nous avons effectué, pour chaque rat, un enregistrement magnétique continu de l'évolution de la radioactivité sanguine. Les "caractères identiques" deviennent ainsi les mesures effectuées chez les différents sujets, à des intervalles identiques après l'injection du traceur. Dans le cadre de cette première série d'expériences, un point toutes les 800 secondes, c'est-à-dire une trentaine de points communs pour une une expérience de six heures, ont été pris.

Pour l'étude de nos données, l'emploi de l'analyse en composantes principales présente un double intérêt :

- Il permet le classement et éventuellement la différenciation des rats en fonction des composantes ;

- il permet l'orientation vers un choix de modèles, le modèle étant déjà par lui-même une autre méthode de réduction de l'information, et permet d'en apprécier la validité.

B . II - ANALYSE COMPARTIMENTALE

II - 1 - Principe, hypothèses et utilisation de l'analyse dans l'étude de la cinétique sanguine du radiocalcium.

L'analyse habituelle de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine spécifique est fondée sur sa décomposition en une somme d'exponentielles dont les coefficients de pente permettent de recalculer les paramètres d'échange du modèle compartimental choisi.

Les hypothèses de base d'une telle analyse, dans le cadre de l'étude de la cinétique sanguine du radiocalcium, sont les suivantes :

- la taille de chaque compartiment ou de chaque pool échangeable reste constante pendant la durée de la mesure,
- à l'intérieur d'un même compartiment, l'équilibre est instantané,
- chaque compartiment reste uniformément "marqué" pendant la période d'observation.
- il existerait dans l'os deux compartiments du radiocalcium : l'un, rapidement échangeable, se répartirait dans le sang ; l'autre, lentement échangeable, ne subirait pas de retour vers le sang, pendant la durée de la mesure.

Il faut remarquer que certaines de ces hypothèses de base sont discutables. En particulier, il est peu probable, biologiquement, que l'équilibre soit instantané à l'intérieur d'un compartiment, d'un pool ou d'un volume, lorsqu'un élément y est introduit à un instant " t ". De plus, il n'existe pas de vérification permettant d'affirmer que le retour du radiocalcium dans le sang, à partir du squelette, est négligeable pendant le laps de temps d'analyse de la courbe. Enfin, certains auteurs (19) utilisant l'analyse compartimentale pour étudier la courbe de décroissance de la radioactivité spécifique du calcium, ont obtenu un résultat paradoxal inexpliqué, tel qu'un V_o^- négatif, c'est-à-dire un coefficient de retour du calcium osseux vers le sang, représenté par une valeur négative.

Cependant, cette analyse a le mérite d'être le premier outil extrêmement utile qui ait permis de quantifier les paramètres d'échanges calciques SANG $\rightleftarrows$ OS, pour des conditions normales et pathologiques. Elle reste, de plus, la méthode la plus couramment utilisée à l'heure actuelle.

Chez l'homme, l'analyse compartimentale de la courbe de décroissance de la radioactivité spécifique sanguine, a montré qu'elle pouvait être décomposée en une somme de trois exponentielles. (AUBERT (6), BAUER (9) KRANE (69). Cette description reste très généralement admise à l'heure actuelle, et si certains auteurs (COHN (31), HEANEY (61) ont seulement décrit deux exponentielles, ils ont volontairement négligé la partie initiale de la courbe.

En effet, au delà d'une zone critique, située selon les sujets entre le 5e et le 8e jour, la pente de la courbe devient nettement plus faible, ce qui fait l'objet de deux interprétations opposées, comme le décrivent MASSIN et VALLEE (77, 78).

Pour les uns (NEER, 88), le changement de pente est progressif et seule la partie tardive de la courbe est réellement rectiligne en coordonnées semi-logarithmiques. L'ensemble de la courbe peut être ainsi décomposé en quatre fonctions exponentielles. Des résultats valables ne peuvent donc être obtenus qu'au terme d'une étude très prolongée (de l'ordre d'une vingtain de jours), en raison de la longue période de l'exponentielle la plus lente.

Pour les autres, (AUBERT (6), HEANEY (61), il existe bien un segment rectiligne en coordonnées semi-logarithmiques dès le 2e jour, et le phénomène observé entre le 5e et le 8e jour, est une véritable "rupture de pente". Ce phénomène évoque un recyclage du traceur , et quel que soit son intérêt, ne peut être actuellement intégré dans l'analyse compartimentale. Celle-ci se limite donc à l'étude de la partie de la courbe antérieure à la rupture de pente.

C'est cette dernière interprétation qui est la plus habituelle et admise implicitement dans les méthodes simplifiées.

Dans le cas des études cinétiques effectuées chez le rat, plusieurs modèles compartimentaux ont été également utilisés, et, pour la plupart, le temps de latence nécessaire pour atteindre un "steady state", est de l'ordre de deux heures (7, 19, 86).

II - 2 . Technique classique de l'analyse compartimentale.

La décomposition de la courbe de décroissance de la radioacticité spécifique sanguine du calcium, peut s'effectuer soit par analyse graphique, soit par analyse automatique sur ordinateur, selon un processus classiquement appelé "processus du peeling". A ce sujet, les remarques suivantes peuvent être faites:

1°- l'analyse graphique comporte une certaine part d'appréciation subjective dans le choix de la meilleure droite, car même l'expérimentateur le plus honnête risque d'être influencé dans son travail par l'espérance du résultat à atteindre.

Dans le cas de l'analyse automatique sur ordinateur, le programme utilisé permet de déterminer plus objectivement que dans l'analyse graphique, le meilleur nombre de termes exponentiels, et fournit les meilleures valeurs des paramètres. Cependant, une certaine part d'appréciation arbitraire intervient au niveau de la détermination des valeurs limites du facteur de seuil, choisies pour chaque

coefficient d'échange, afin d'obtenir la qualité d'ajustement désirée. En effet, ainsi que l'écrit VALLEE (114, 115) : " *le programme de peeling machine, ne supprime pas tous les inconvénients du peeling manuel, car dans son principe, il utilise la même manière de faire la détermination première du terme de plus grande durée, à partir des points correspondant aux temps courts et d'effectuer enfin l'itération du procédé sur les restes ainsi obtenus.*" Pour remplacer les critères plus ou moins arbitraires de l'expérimentateur dans l'analyse graphique, une règle est alors fixée : " *Afin de caractériser la limite à partir de laquelle un point expérimental peut être considéré comme aligné sur les autres, un indice est utilisé, dont il faut fixer la valeur avant chaque passage en machine. Cet indice est appelé "facteur de seuil". Mais le schéma théorique selon lequel se déroule le programme se heurte en pratique à des difficultés, car la répartition aléatoire des erreurs expérimentales peut créer localement des conditions critiques, le facteur-seuil jouant à la limite dans un sens ou dans un autre.*"

En résumé, quelle que soit la technique d'analyse compartimentale classique utilisée, graphique ou automatique, la définition de la bande d'erreurs permettant la décomposition de la courbe en une somme d'exponentielles, est fixée de façon arbitraire ; et, c'est une faible différence autour des valeurs expérimentales qui permet au programme ou à l'expérimentateur de décomposer la courbe. La subjectivité du choix conditionne alors partiellement ou totalement l'analyse.

2°- Le processus de soustractions par éléments risque d'entraîner un cumul d'erreurs.

3°- Lorsqu'une courbe peut être décomposée en une somme d'exponentielles, les coefficients de chaque fonction exponentielle interviennent à un degré divers sur l'ensemble de la courbe. En conséquence, toute méthode qui permettrait un ajustement "en bloc" de la courbe serait supérieure à la méthode du "peeling" qui consiste à assimiler une portion de courbe à une seule exponentielle, dans laquelle n'interviennent pas les coefficients des autres exponentielles.

C'est pourquoi nous avons préféré utiliser la technique d'ajustement de BAZIN J.P. (11) fondée sur la méthode adaptative de MONTE CARLO (2, 29) car cette technique probabiliste répond aux remarques précédemment exposées et que son utilisation en est simple.

II - 3 *Technique d'ajustement de BAZIN*

II - 3.1 - Principe général

Le principe général de cette technique est fondé sur le tirage au hasard simultané des valeurs des coefficients d'échange, du recalcul de la courbe théorique à partir de ces coefficients, et de la comparaison de la courbe théorique avec la courbe expérimentale. Le tirage au hasard est recommencé un grand nombre de fois, et seules les valeurs qui améliorent la qualité de l'ajustement sont prises en considération petit à petit. On arrive à la solution par un processus de convergence.

II - 3.2 - Processus probabiliste mis en jeu pour atteindre la "convergence"

Un modèle compartimental comporte plusieurs coefficients d'échange. Pour accélérer le processus de convergence qui est très long, on peut par une méthode graphique sommaire avoir une idée de l'ordre de grandeur de la valeur de chacun d'eux. A partir de cette valeur grossière, on définit deux valeurs limites qui sont, l'une cent fois plus faible et l'autre cent fois plus forte. Entre ces deux limites, les valeurs possibles du coefficient seront tirées au hasard. On définit donc autant de "fourchettes" qu'il y a de coefficients dans le modèle.

Simultanément, on tire au hasard à l'intérieur de ces fourchettes des valeurs de coefficients, et on recalcule à partir du modèle et de ces valeurs, une courbe théorique qui est comparée à la courbe expérimentale.

Comme tous ces coefficients sont tirés simultanément au hasard, on ne peut connaître quelle est la part de chacun d'eux, lorsque la qualité de l'ajustement est améliorée. Pour résoudre ce problème, la méthode utilise un processus probabiliste. Chacune des "fourchettes" est subdivisée en dix bandes égales dont les probabilités d'être tirées au hasard sont identiques. Si, dans la série des tirages, il y a une amélioration de la qualité de l'ajustement, l'importance relative de la bande retenue dans la fourchette est augmentée, afin de lui donner une probabilité plus grande d'être à nouveau choisie.

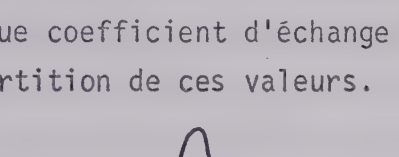
Ce processus est pratiqué simultanément pour chacun des coefficients, mais l'amélioration de la qualité de l'ajustement n'est en générale due qu'à un ou parfois deux d'entre eux. Progressivement, le processus de convergence éliminera les bandes éloignées de la valeur réelle de chacun des coefficients.

La justification mathématique de la technique d'ajustement de BAZIN dérive de la méthode de MONTE CARLO qui est exposée dans la thèse de LEGRAND (92).

II - 3.3 - Avantages et limites de la technique de BAZIN

1°- Dans la méthode par tirage au hasard, la seule partie subjective réside dans le choix des bornes de la "fourchette" de chaque paramètre. Mais celles-ci sont calculées très larges, et de plus, s'il existe une erreur, le programme permet de la déceler et redéfinit automatiquement de nouvelles limites adaptées au modèle. Dans cette méthode la part de subjectivité devient ainsi négligeable.

2°- Contrairement à la technique classique d'analyse compartimentale, la technique probabiliste permet d'apprécier l'importance de la précision du coefficient sur la qualité de l'ajustement. En effet, au cours des tirages au hasard successifs des coefficients, les valeurs ayant entraîné une amélioration de la qualité de l'ajustement sont mises en mémoire et, au dernier tirage, chaque coefficient d'échange est accompagné d'un histogramme représentant la répartition de ces valeurs.



Un histogramme pointu caractérise un coefficient pour lequel une petite variation de sa valeur entraîne une grande perte de la qualité de l'ajustement. Ce coefficient est ainsi bien défini.

Un histogramme étalé caractérise un coefficient pour lequel une forte variation ne modifie pas ou peu l'allure de la courbe.

Dans le cas d'un histogramme plat, le coefficient peut prendre n'importe quelle valeur entre les deux bornes de la fourchette sans que la qualité de l'ajustement soit diminuée. Ce coefficient n'est donc pas défini.

Parfois, un coefficient présente deux pics entre les bornes de la fourchette. Cela signifie qu'il existe deux solution au modèle compartimental étudié.

Lorsque tous les coefficients sont plats et la qualité de l'ajustement excellente, la courbe n'est pas justiciable d'une analyse compartimentale (mesure de la cinétique sanguine du ^{24}Na chez l'homme pathologique -(47)-).

2°- Dans la technique classique, la courbe d'évolution de la radioactivité sanguine calcique est ajustée sur une somme d'exponentielles, les paramètres du modèle sont recalculés à partir des coefficients, et il est possible, à partir des mêmes coefficients d'une somme de "n" exponentielles, de recalculer les paramètres de nombreux modèles différents.

Par contre, la méthode de tirage au hasard permet d'ajuster directement la courbe sur le modèle choisi.

3°- La méthode de tirage au hasard permettant d'effectuer l'ajustement de la courbe sur la totalité, et non pas par portions successives, chaque point intervient dès lors dans le choix des valeurs des paramètres d'échanges et le risque de cumul des erreurs devient inexistant.

4°- En outre, la méthode de tirage au hasard permet de faire intervenir d'autres données que les données sanguines pour calculer les coefficients d'échange du modèle compartimental.

Nous avons choisi d'introduire les données osseuses, puisque d'une part le rôle de l'os est important dans le métabolisme calcique, et que d'autre part, l'évolution des éliminations urinaires et fécales est difficile à suivre pendant les premières heures après l'injection du radiocalcium. Comme il doit exister une corrélation entre la dynamique d'épuration sanguine du radiocalcium et la capture de cet élément dans le squelette, l'introduction des données osseuses dans un modèle devrait permettre d'apprécier la validité de ce modèle. De plus, lorsqu'une caractéristique physiologique du modèle est connue, on peut en introduire la valeur pour calculer les autres paramètres du modèle.

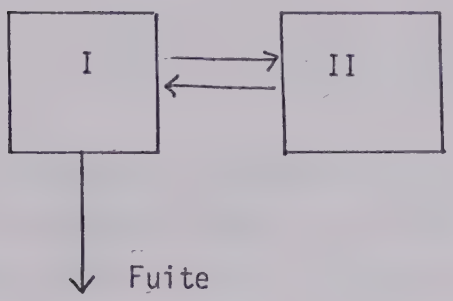
II - 3.4 - Technique d'entrée des données.

Le programme utilisé est décrit en langage FORTRAN IV, et les données sont traitées sur ordinateur IBM 360-91. Ce programme permet de tester n'importe quel modèle de 2 à 7 compartiments, en changeant simplement quelques cartes de données. Le programme est réalisé pour donner une image aussi fidèle que possible de l'expérience :

- on définit tout d'abord le nombre de compartiments, puis à l'aide d'un

système matriciel, les échanges connus et inconnus à partir de plusieurs compartiments.

Soit, par exemple, le modèle compartimental suivant :



	I	II
I	- 1	- 1
II	- 1	0

Le dessin de la matrice - I -1 -1 0 définit

- le paramètre de fuite à partir du compartiment I (-1, car inconnu)
- le paramètre d'échange II → 1 (-1, car inconnu)
- le paramètre I → II (-1, car inconnu)
- le symbole 0 correspond à l'absence de fuite à partir du compartiment II.

Si la valeur de l'un des paramètres est connue, elle peut être alors imposée. Par exemple, si le paramètre de fuite = 0,25, le dessin de la matière devient le suivant : 0,25 -1 -1 0

- on décrit ensuite les conditions initiales de l'expérience, c'est-àdire la répartition de la radioactivité au temps d'origine dans les divers compartiments. Celle-ci peut être imposée si elle est connue, ou recalculée si elle est inconnue.
- puis le dispositif expérimental est décrit :
  - nombre de détecteurs utilisés,
  - compartiments "vus" par chaque détecteur,
  - rendements relatifs connus ou inconnus des détecteurs entre eux,
  - type de mesure : mesure directe sur un compartiment ou mesure cumulative sur une fuite.
- enfin, on introduit dans le programme les bornes de tous les paramètres à calculer.

Appliquée à de nombreux problèmes, la méthode de tirage au hasard a montré que, dans certains cas, l'analyse compartimentale se justifiait (problème d'épuration pulmonaire...), et que dans d'autres cas, elle ne pouvait être employée (47).

Dans le cas de l'étude de la cinétique sanguine radiocalcique à court terme,

nous serons amenés à utiliser un autre type d'analyse mathématique individuelle : l'analyse par la fonction de puissance.

B - III - ANALYSE PAR LA FONCTION DE PUISSANCE

Un programme FORTRAN IV d'ajustement sur une fonction de puissance permet d'analyser facilement nos courbes expérimentales, en utilisant la méthode des moindres carrés . Ce programme fournit deux valeurs :

1°- le coefficient "λ" qui est le coefficient de la pente de la droite d'ajustement,

2°- le coefficient "6", représentatif de la qualité de l'ajustement.

En définitive, les trois méthodes d'analyse mathématique précédemment exposées seront utilisées pour étudier les courbes de décroissance de la radioactivité sanguine calcique, enregistrée en continu pendant les six premières heures, après l'injection intraveineuse de ^{45}Ca chez le rat normal. L'Analyse en composantes principales servira d'analyse de référence, et permettra de définir le nombre de paramètres essentiels caractérisant la courbe initiale, et supportant le maximum d'information ; en fonction du nombre de ces paramètres et de leur pourcentage d'information respectif, elle permettra de nous orienter vers un choix de modèles compartimentaux simples ; la validité s'un modèle compartimental sera testée par l'injection simultanée de données sanguines et osseuses. Enfin, devant les résultats obtenus, nous serons amenés à utiliser l'ajustement des courbes selon une fonction de puissance.

C

APPLICATION DES METHODES D'ANALYSE CHEZ LE RAT NORMAL

C - I - ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES

La première composante principale C_1 résume à elle seule 78 % de l'information totale supportée par la courbe. Si nous disposons d'un modèle mathématique valable à un seul paramètre, l'utilisation de ce modèle n'entraînera donc qu'une perte de 22 %de l'information. Cette première composante est correlée avec la courbe expérimentale entre les 2ème et 14ème points expérimentaux, c'est-à-dire avec la portion de la courbe qui subit la décroissance la plus rapide de la radioactivité sanguine (jusque vers la troisième heure). Elle pourrait donc être représentative d'un paramètre de dynamique ; cette hypothèse sera vérifiée ultérieurement, lors de l'analyse en composantes principales de courbes obtenues dans diverses conditions pathologiques.

La seconde composante C_2 résume 13 % de l'information totale. Si nous disposons d'un modèle mathématique valable à deux paramètres, l'utilisation de ce modèle n'entraînera donc qu'une perte de 9 % de l'information. Cette seconde composante est correlée pour les 22ème et 23ème points expérimentaux, c'est-à-dire aux environs de la cinquième heure. Il semble qu'à ce moment-là, un changement de pente intervienne chez tous les animaux étudiés.

Nous vérifierons ultérieurement que, lors de l'analyse en composante principale des courbes de décroissance, effectuée seulement pendant les quatre premières heures, cette seconde composante n'existe plus.

La troisième composante C_3 résume 5 % de l'information totale. Si nous disposons d'un modèle mathématique à trois paramètres, le troisième paramètre n'apportera donc que 5 % de plus à l'information. Une corrélation avec la courbe expérimentale existe depuis le premier point jusqu'au dernier point expérimental. Cette composante serait plus représentative de la structure de la courbe, plutôt que de sa pente, et cette hypothèse sera vérifiée ultérieurement.

En définitive, les résultats obtenus par cette analyse multidimensionnelle, incitent à utiliser dans le cadre d'une analyse mathématique individuelle des mêmes courbes, des modèles compartimentaux simples, caractérisés par un faible nombre de paramètres d'échange.

C - II ANALYSE COMPARTIMENTALE

Plusieurs modèles de type compartimental ont été expérimentés, et 2, 3 ou 5 coefficients d'échange leur ont été attribués. Ces coefficients représentent la fraction de calcium quittant un compartiment par unité de temps (l'heure);au niveau de chaque animal chaque coefficient est accompagné d'un histogramme de répartition de ses valeurs ayant amélioré la qualité de l'ajustement sur le modèle testé ; au niveau du groupe, les variations des valeurs des coefficients sont exprimées par leur valeur moyenne.

Les coefficients Q PRECISION, sont représentatifs de la qualité de l'ajustement et sont calculés à partir de la somme des carrés des écarts sur le nombre de points expérimentaux.

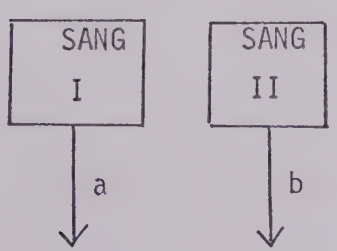
II - 1 - Ajustement des données sanguines

. essais de résolution d'un modèle compartimental susceptible d'être décomposé en une somme de deux exponentielles.

N.B. : Radioactivité initiale = R.A.I.

a- Modèle à 2 compartiments et 4 coefficients
(2 coefficients de fuite : inconnue
(
(2 coefficients : répartition de la R.A.I. : inconnue

MODELE 1



Pour tester la validité de la courbe sur une somme de 2 exponentielles, nous avons utilisé le modèle à deux compartiments à partir desquels s'effectuent deux fuites en parallèle

Le détecteur " voit " simultanément les deux compartiments. Et les charges simultanées des compartiments sanguins I et II, en temps initial, sont inconnues et calculées par l'ordinateur.

TABLEAU 3

ANALYSE COMPARTIMENTALE

MODELES A DEUX EXPONENTIELLES

	N° Rat	PRE.	a	b	c
MODELE I					
	1	0,09	0,18	2,95	
	2	0,14	0,19	3,62	
	3	0,15	0,22	3,37	
	4	0,05	0,13	1,39	
	5	0,12	0,17	2,25	
MODELE II					
	1	0,09	0,53	1,13	1,65
	2	0,14	0,50	1,31	1,86
	3	0,15	0,56	1,26	1,66
	4	0,05	0,38	0,52	0,69
	5	0,12	0,49	0,73	1,12
MODELE III					
	1	0,3	0,36	5,4	2,9
	2	0,4	0,36	7,8	4,8
	3	0,2	0,34	2,8	1,3
	4	0,4	0,50	2,6	2,1
	5	0,2	0,27	1,9	0,7

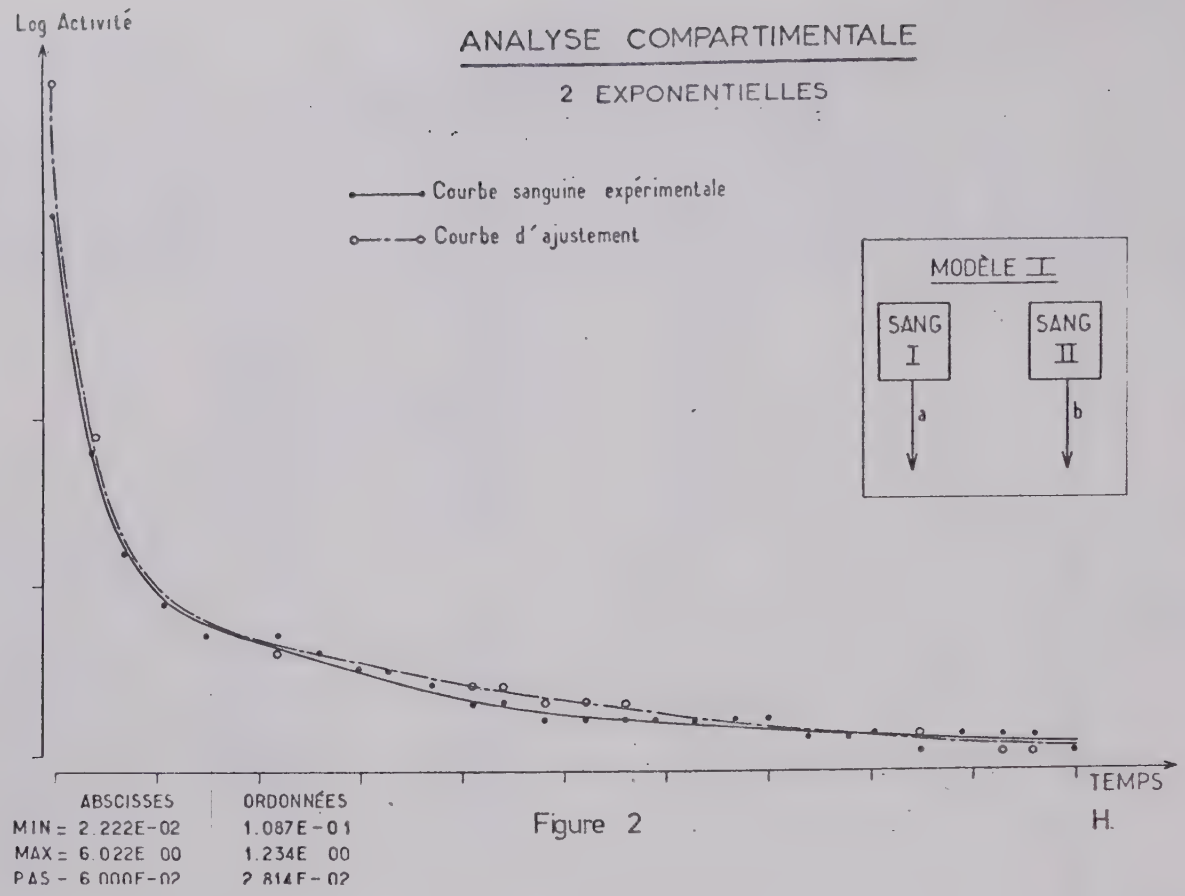


Figure 2

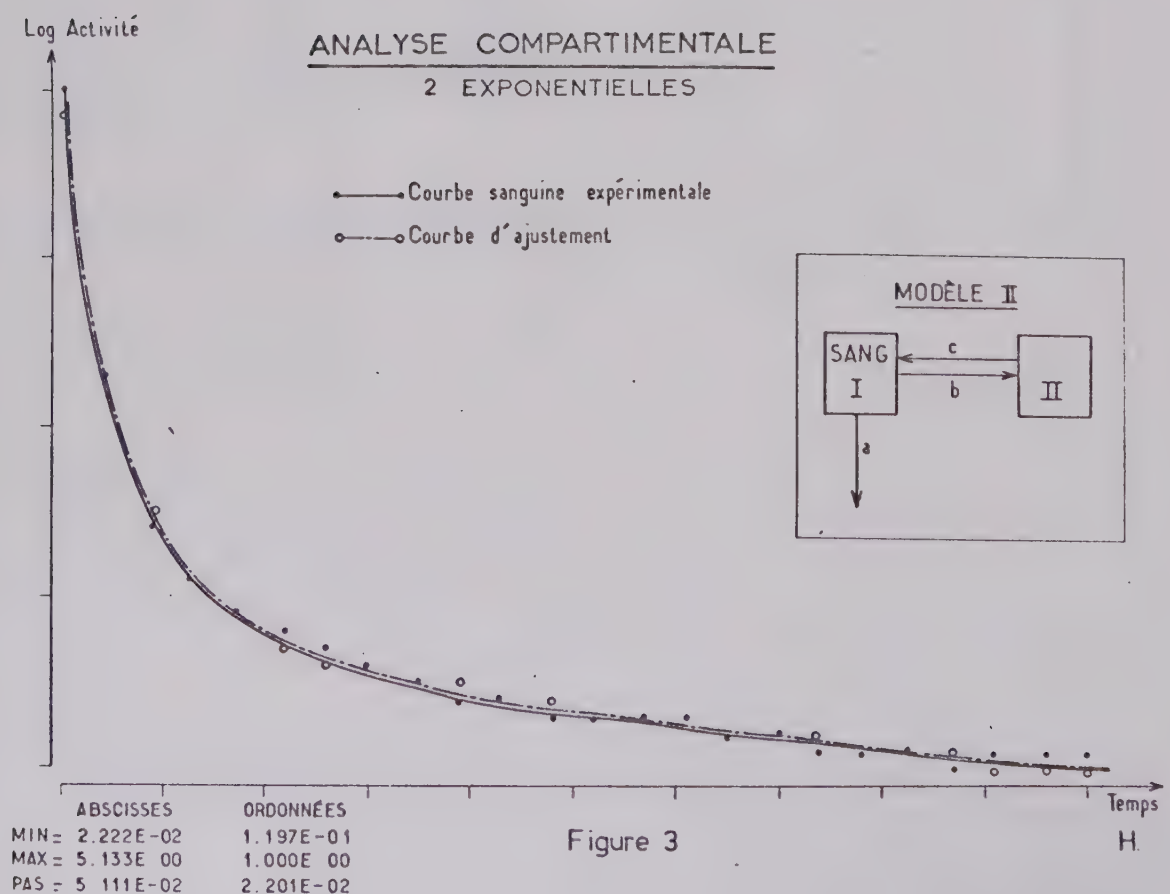


Figure 3

Les valeurs de chaque coefficient de fuite, aussi bien que la valeur de la qualité de l'ajustement, pour chaque courbe sanguine, sont représentées dans le tableau 3.

Un exemple d'ajustement des courbes selon ce modèle est montré sur la Fig. 2.

Les valeurs moyennes des coefficients sont également calculées. Les résultats montrent que :

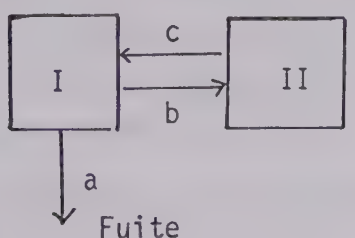
- les qualités d'ajustement sont comparables dans le cas des cinq courbes sanguines étudiées.
- la valeur moyenne du coefficient de fuite " a " est bien définie, puisque ses limites de variation sont faibles.
- le coefficient " b " est moins bien défini, puisque sa dispersion est plus élevée d'un animal à l'autre.

L'histogramme du coefficient " a " est pointu, pour chaque courbe, et laisse prévoir qu'une faible variation de la valeur du coefficient modifierait la qualité de l'ajustement, tandis que l'histogramme du coefficient b, moins pointu que le premier, montre qu'une même variation modifierait moins la qualité de l'ajustement.

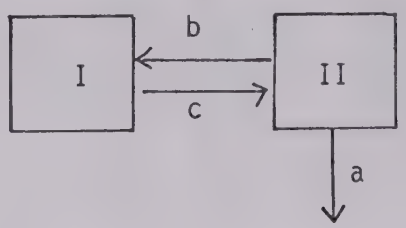
b- Modèle à 2 compartiments et 5 coefficients.

(2 coefficients d'échange	: inconnus
(1 coefficient de fuite	: inconnu
(2 coefficients de répartition de R.A.I.	: connus

1er cas : Modèle II



2ème cas : Modèle III



Dans les deux cas, le détecteur ne voit que le compartiment I. Les charges respectives simultanées des compartiments à l'origine sont de 100 % pour le premier compartiment et de 0 % pour le compartiment II.

Les résultats sont exprimés dans le tableau 3. Ils montrent que la qualité de l'ajustement du modèle II est comparable à la qualité de l'ajustement du modèle 1 précédent, et que celle du modèle III est moins bonne. Un exemple d'ajustement des courbes sur le modèle II est montré sur la Fig.3

ANALYSE COMPARTIMENTALE

FIGURE 4

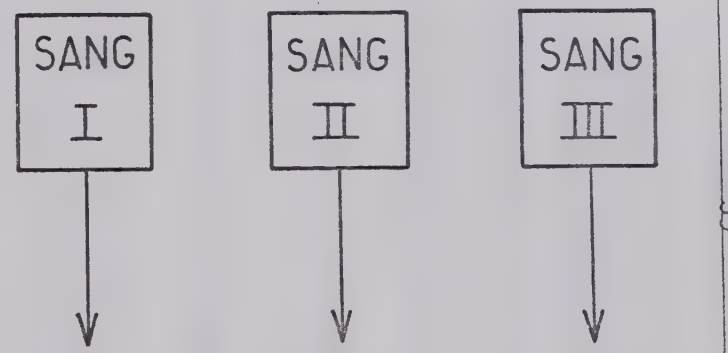
3 EXPONENTIELLES

Log Activité

Courbe sanguine expérimentale

Courbe d'ajustement

MODÈLE [4]



	ABSCISSES	ORDONNÉES
MIN=	2.222E-02	1.178E-01
MAX=	6.022E 00	1.014E 00

Temps(Heur

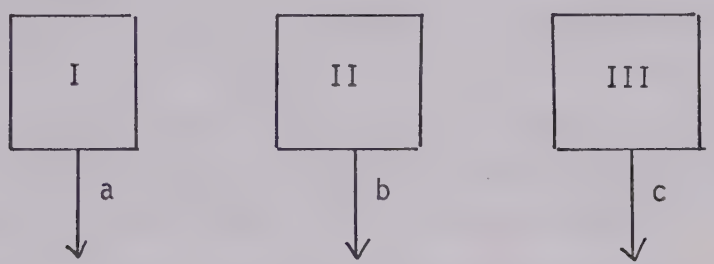
Au niveau du groupe, les coefficients " a " sont bien définis et les coefficients b et c moins bien définis. Mais toujours les coefficients du modèle III ont des valeurs de dispersion plus élevées que celles des coefficients du modèle II. Au niveau de chaque animal; les histogrammes des coefficients " a " sont pointus, tandis que les histogrammes des coefficients " b " et " c " sont plus étalés.

II - 1.2 : Essais de résolution d'un modèle compartimental susceptible d'être décomposé en une somme de trois exponentielle

a - Modèle à 3 compartiments et 6 coefficients

(3 coefficients de fuite : inconnus
(3 coefficients de répartition de R.A.I. : inconnus

Modèle IV



Pour tester la validité de l'ajustement de la courbe sur une somme de 3 exponentielles, nous avons utilisé ce modèle à trois compartiments, à partir desquels s'effectuent trois fuites en parallèle.

Le détecteur voit simultanément les trois compartiments,et les charges simultanées des compartiments sanguins I, II et III, au temps initial, sont inconnues et calculées par l'ordinateur.

Les résultats sont exprimés dans le tableau 4 . Au niveau du groupe, la précision du coefficient " a " est bonne, celle du coefficient " b " moins bonne et celle du coefficient " c " encore moins bonne.

Un exemple d'ajustement des courbes sur ce modèle est montré sur la Fig. 4.

Au niveau de chaque animal, la qualité de l'ajustement est encore meilleure que celle des modèles précédents et les histogrammes de chaque coefficient confirment que le coefficient " a " est très bien défini, le coefficient " b " moins bien défini, et qu'une faible variation du coefficient ne modifierait que peu ou pas la qualité de l'ajustement.

TABLEAU 4

ANALYSE COMPARTIMENTALE

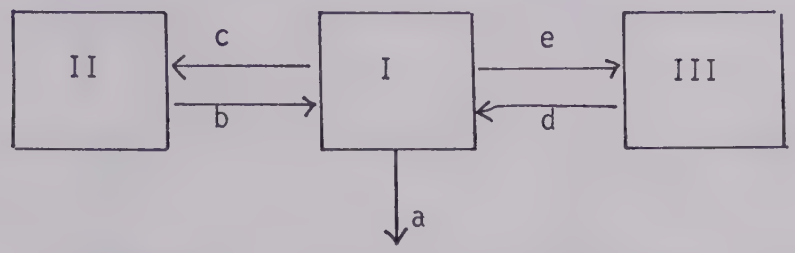
MODELES A TROIS EXPONENTIELLES

	N° Rat	PRE	a	b	c	d	e
MODELE IV							
	1	0,05	0,43	3,7	0,005		
	2	0,08	0,47	4,7	0,03		
	3	0,10	0,42	3,7	0,05		
	4	0,03	0,38	1,5	0,006		
	5	0,09	0,47	2,6	0,05		
MODELE V							
	1	0,08	0,52	1,4	0,99	0,77	5,8
	2	0,46	0,56	4,1	8,89	8,99	9,2
	3	0,14	0,56	0,1	4,10	1,6	1,2

b- Modèle à 3 compartiments et 8 coefficients

(4 coefficients d'échange : inconnus
(1 coefficient de fuite : inconnu
(3 coefficients de répartition de R.A.I. : connus

Modèle V



Le détecteur ne voit que le compartiment I. Les charges respectives simultanées des compartiments, au temps d'origine, sont de 100 % pour le compartiment I et de 0 % pour les compartiments II et III.

Les résultats sont exprimés dans le tableau 4.

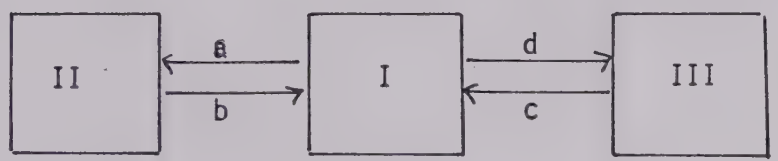
Au niveau du groupe, ces résultats montrent que seule la précision du coefficient " a " est bonne et que, pour les autres coefficients, leur dispersion est telle qu'ils n'ont plus de signification.

Au niveau de chaque courbe, la qualité de l'ajustement est cependant correcte, mais les histogrammes relatifs à chaque coefficient confirment que seul le coefficient " a " est bien défini.

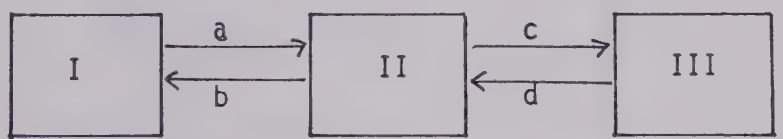
c- Modèle à 3 compartiments et 7 coefficients

(4 coefficients d'échange : inconnus
(3 coefficients de répartition de la R.A.I. : connus

Madèle VI



Modèle VII



La technique d'analyse utilisée ne permet pas la résolution de ce type de modèle .

T A B L E A U 5

VALEURS MOYENNES ET DISPERSION DES COEFFICIENTS OBTENUS POUR LES DIVERS MODELES COMPARTIMENTAUX.

	MODELE I	MODELE II	MODELE III	MODELE IV	MODELE V
PRE.	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,30 ± 0,03	0,07 ± 0,007	0,053 ± 0,001
$\bar{M}$ a	0,18 (5 %)	0,49 (6 %)	0,37 (10 %)	0,43 (1,4%)	0,55 (2 %)
$\bar{M}$ b	2,70 (11 %)	0,99 (15 %)	4,10 (27 %)	3,20 (17 %)	1,86 (70 %)
$\bar{M}$ c		1,40 (15 %)	2,40 (30 %)	0,03 (50 %)	5,40 (42 %)
$\bar{M}$ d					3,80 (70 %)
M e					5,40 (52 %)

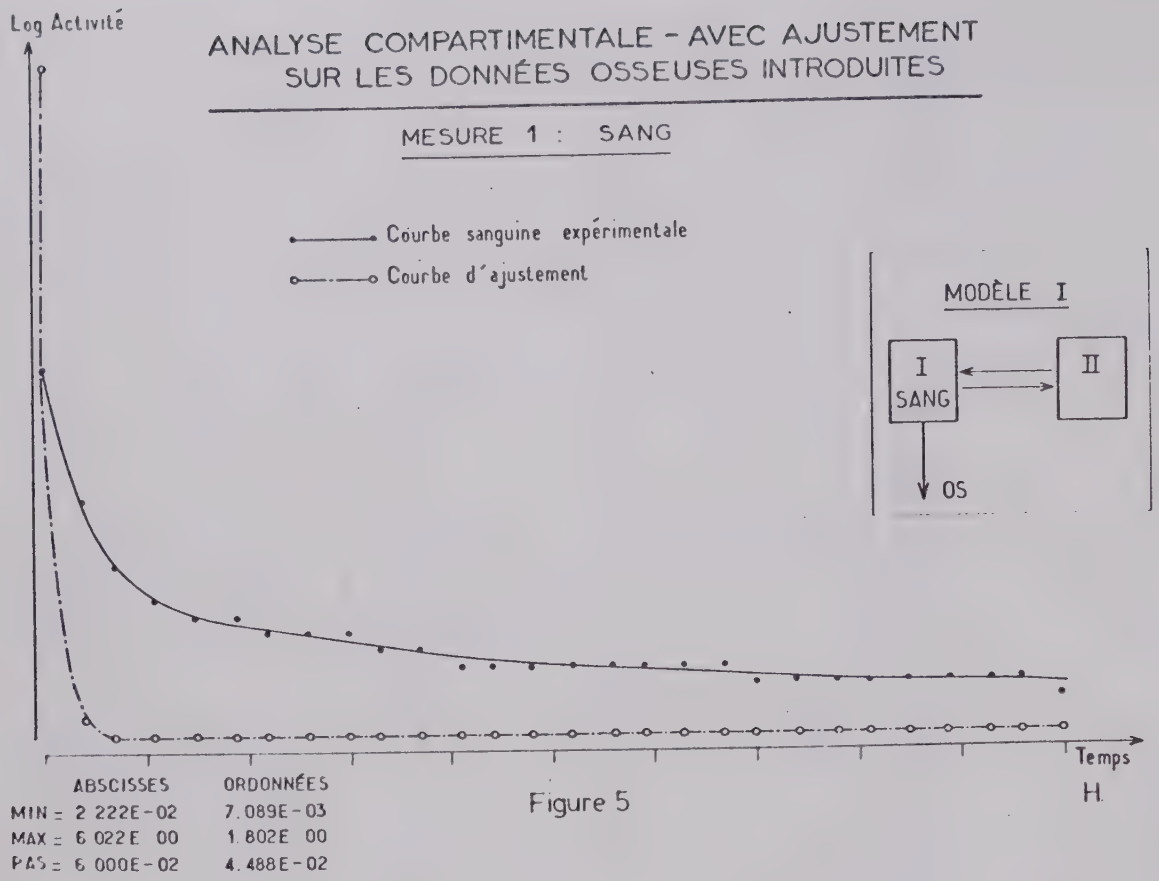


Figure 5

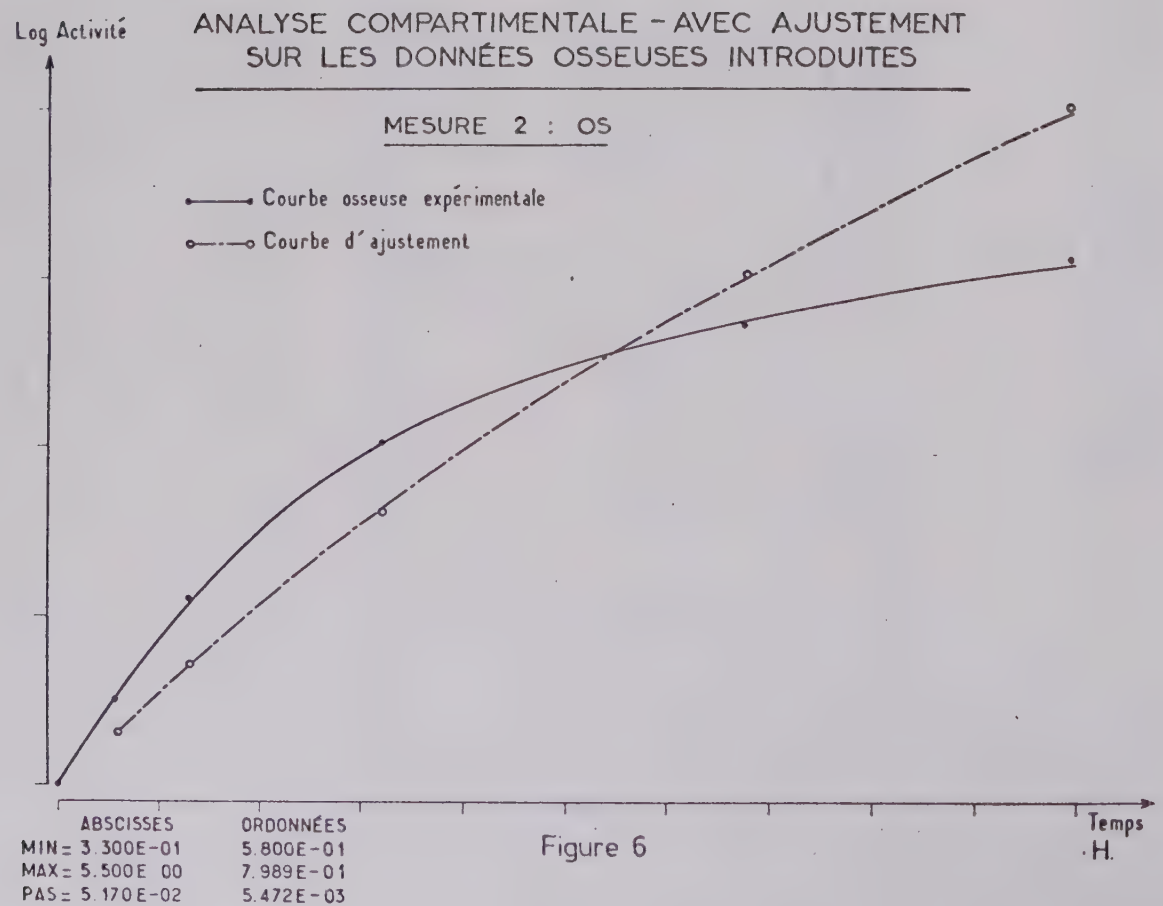


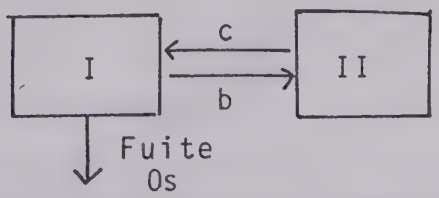
Figure 6

En conclusion (tableau 5) nous constatons que, parmi les coefficients d'échange ou de fuite des modèles compartimentaux proposés, seuls les coefficients " a " de fuite sont comparables et bien définis, puisque un ou deux au maximum sont connus, et seulement dans le cas des modèles II, III et IV ; les autres ont des valeurs tellement dispersées que leur signification devient douteuse. Or , l'analyse en composantes principales avait laissé prévoir que nos données sanguines permettaient d'accorder une bonne signification et une bonne précision au premier paramètre, une signification faible au deuxième et une signification très faible au troisième.Les résultats obtenus par l'analyse compartimentale sont donc bien conformes aux conclusions tirées de l'analyse en composantes principales.

Pour chaque modèle compartimental proposé, l'ajustement est correct ; mais la qualité d'un ajustement n'étant pas synonyme de la validité d'un modèle, nous allons donc essayer de tester la validité d'un modèle par l'introduction des données osseuses dans ce modèle.. En effet, le paramètre de fuite " a " le mieux défini et le plus précis, qui est un paramètre de fuite, représente la somme des excrétions urinaire et fécale, ainsi que la capture du calcium par le squelette. Si l'on fait l'hypothèse qu'il existe un rapport constant entre ces différentes fractions, on peut utiliser l'introduction des données osseuses dans le modèle compartimental pour essayer de tester la validité de modèles de type compartimental.

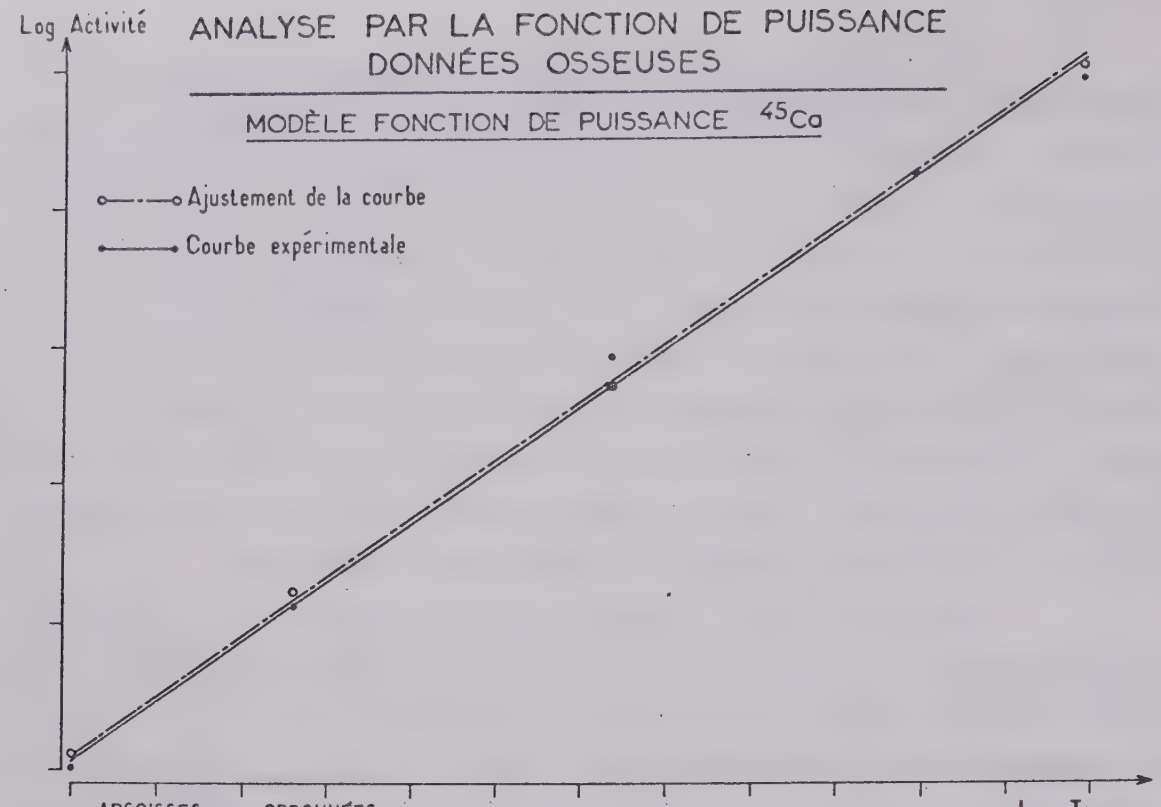
II - 2 - Ajustement simultané des données sanguines et des données osseuses.

Le modèle compartimental suivant a été choisi parmi tous ceux que nous avons étudié, car ce modèle est conforme aux conclusions de l'analyse en composantes principales.



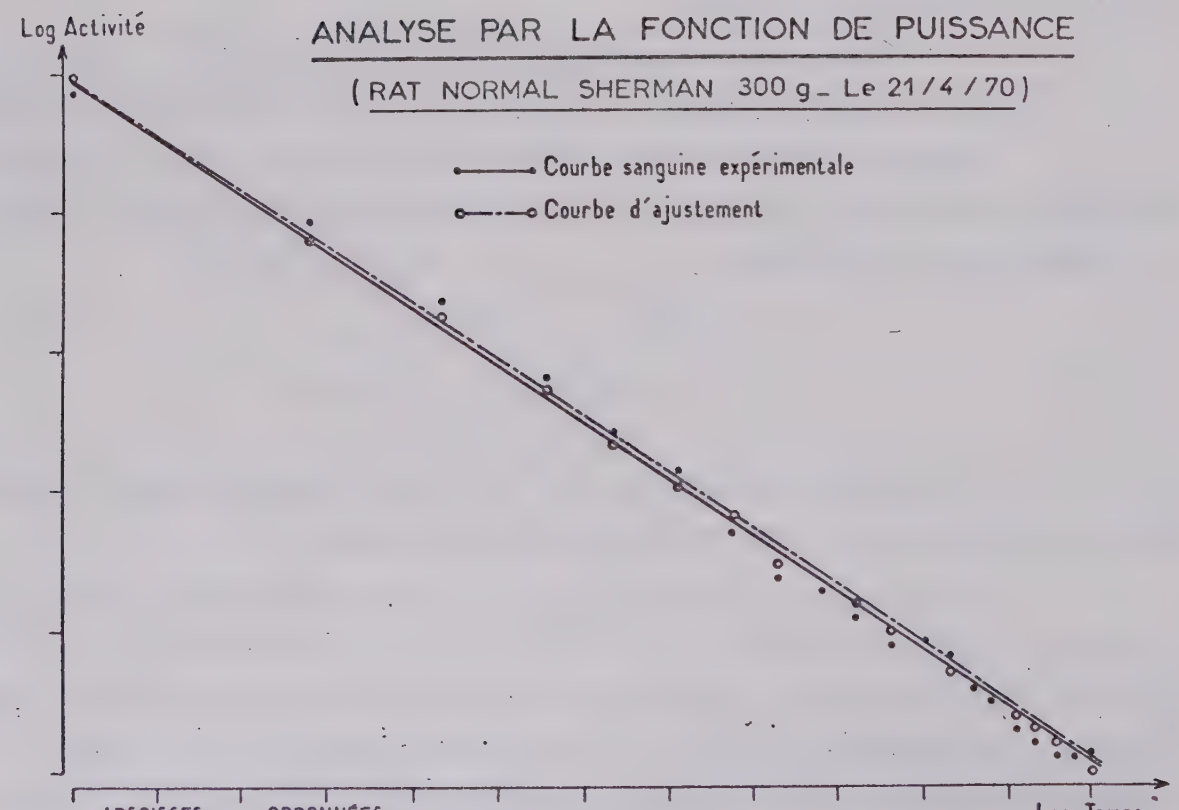
Les données osseuses ont été définies précédemment dans le paragraphe Matériel expérimental, concernant ces données osseuses.

L'ajustement simultané des deux séries de données, osseuses et sanguines, n'est pas possible (Fig. 5 et 6). Il ne devient réalisable qu'en utilisant un modèle compartimental avec un nombre de paramètres supérieur à 6, paramètres dont la précision est très faible. Or les résultats obtenus précédemment par l'analyse en composantes principales et l'analyse compartimentale, suggèrent que seuls, deux paramètres semblent avoir une véritable signification, et qu'à partir du troisième, ils peuvent varier d'un



	ABSCISSES	ORDONNÉES
MIN =	-4.708E-01	-4.943E-01
MAX =	1.705E 00	-2.820E-01
PAS =	1.819E-02	4.245E-03

Figure 7



	ABSCISSES	ORDONNÉES
MIN =	2.303E 00	5.821E 00
MAX =	5.298E 00	7.065E 00
PAS =	2.496E-02	2.489E-02

Figure 8

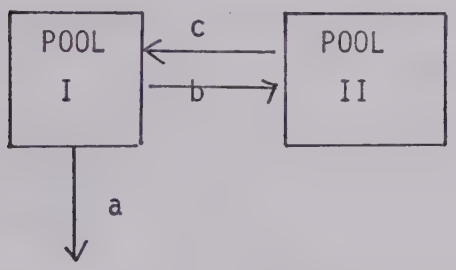
facteur 10, sans que cela influe sur la qualité de l'ajustement.

Nous avons donc été amenés à utiliser d'autres méthodes d'analyse mathématique que l'analyse compartimentale, pour étudier la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine du calcium, pendant les six premières heures ; nous avons choisi l'analyse par la fonction de puissance ; car si une courbe expérimentale est la résultante d'une somme de multiples exponentielles, elle est susceptible de s'ajuster sur une fonction de puissance (112)

C - III - ANALYSE DES COURBES PAR LA FONCTION DE PUISSANCE

III - 1 - Test de la validité de l'utilisation de la fonction de puissance

Pour cela, le programme d'analyse compartimentale a été utilisé en remplaçant l'échelle linéaire des temps par une échelle logarithmique. Le même modèle simple précédent a été testé :



Toute la radioactivité est injectée dans le pool I. Les données osseuses sont introduites simultanément avec les données sanguines, le squelette étant, là aussi, représentatif de la fuite hors du modèle.

Si l'ajustement de la courbe sanguine calcique sur une fonction de puissance est valable, l'addition d'un pool II n'est pas nécessaire à la résolution du système. Le pool II n'est donc introduit que pour tester la validité ou la non validité de l'utilisation de la fonction de puissance.

Les résultats sont les suivants :

1°- Des ajustements corrects des deux courbes osseuses et sanguines sont obtenus simultanément (Fig. 7 et 8) alors que pour le même modèle compartimental, les ajustements étaient impossibles.

2°- Les coefficients b et c sont identiques et très faibles, ce qui enlève toute signification à l'existence du deuxième compartiment.

Ces résultats permettent de conclure à la validité de l'utilisation de la fonction de puissance pour ajuster les courbes de l'évolution de la radioactivité sanguine calcique chez le rat pendant les six premières heures après l'injection du radiocalcium.

TABLEAU 5 bis

ANALYSE EN FONCTION DE PUISSANCE

N° RAT		λ	ECART TYPE
1	SOUCHE WISTAR	0,49	± 0,09
2		0,49	± 0,09
3		0,55	± 0,10
4		0,56	± 0,10
5		0,56	± 0,11

III - 2 - Résultats de l'analyse des courbes par la fonction de puissance.

Les résultats sont exposés dans le tableau 5bis. Deux valeurs sont fournies :

1°- Le coefficient " λ ", de pente de la droite d'ajustement. Ce coefficient est représentatif de la capture du radiocalcium par le squelette, de sa dispersion dans l'organisme, et de son élimination par les voies d'excrétion.

2°- Le coefficient 6, représentatif de la qualité de l'ajustement.

Les valeurs des coefficients "λ" sont homogènes, tandis que les valeurs des coefficients "6" témoignent d'une bonne qualité d'ajustement.

Nous avons déjà précédemment cité , dans l'introduction, divers auteurs (3, 22, 74, 112) pour lesquels il paraît improbable qu'une simple série d'exponentielles puisse rendre compte de l'évolution de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine calcique, et qui utilisent la fonction de puissance pour essayer de répondre aux hypothèses discutables de l'analyse compartimentale. Mais ces auteurs, en particulier BULLAMORE et coll (22), l'utilisent surtout pour approcher le processus d'excrétion ou de minéralisation osseuse, à partir d'un certain temps de latence consécutif aux échanges rapides du radiocalcium dans les tissus mous et la fraction rapidement échangeable du squelette.

Notre objectif, au contraire, est d'essayer pendant ce "temps de latence" de mettre en évidence l'existence d'un processus de capture rapide du calcium par le squelette.

EN RESUME trois méthodes d'analyse mathématique ont été utilisées pour étudier la cinétique calcique sanguine chez les animaux normaux enregistrés en continu pendant les six premières heures :

1°- L'analyse en composantes principales : elle ne fournit pas de valeurs de coefficients d'échanges, mais les valeurs de ses composantes permettent l'orientation vers un choix de modèle mathématique.

2°- L'analyse compartimentale : elle fournit des valeurs quantifiées des coefficients d'échange intercompartimentaux, des qualités d'ajustement correctes quel que soit le type de modèle étudié ; mais elle ne permet pas l'ajustement simultané des courbes sanguines et osseuses sur le même modèle simple, car la réalisation d'un ajustement simultané nécessite

un nombre de paramètres trop élevé pour que chacun d'eux ait une signification véritable.

3°- L'analyse par la fonction de puissance : elle ne fournit pas de valeurs de coefficients d'échange, mais elle permet d'ajuster simultanément les courbes sanguine et osseuse, et de définir un coefficient " λ " représentatif de la dynamique de fuite du calcium injecté dans le sang.

EN CONCLUSION

Un modèle compartimental devient difficilement utilisable pour rendre compte de la capture du calcium par le squelette pendant les six premières heures. Et nous avons préféré employer l'analyse en composantes principales et l'analyse par la fonction de puissance, pour vérifier si dès les temps précoces après l'injection du radiocalcium, il était déjà possible, chez le rat, d'établir une discrimination des cinétiques sanguines calciques en fonction de divers états pathologiques.

TABLEAU 6

I - Régime appauvri en phosphore { 0,04 % P / 0,5 Ca

Mélange salin en %

Carbonate de calcium	48,702
Chlorure de potassium	20,742
Carbonate de potassium	8,252
Chlorure de sodium	9,900
Carbonate de sodium	8,225
Sulfate de magnesium $7H_2O$	2,164
Oxalathe de fer $2H_2O$	2,392
Fluorure de sodium	0,140
Sulfate de cuivre $5H_2O$	0,140
Alun de potassium $24H_2O$	0,027
Sulfate de magnesium H_2O	0,005
Iodure de potassium	0,009

Composants pour 1 kg. de poudre.

Mélange salin	27,7 g.
Amydon Sophyl	315 g.
Glucose RAL	397 g.
Fibrin blood	180 g.
Vitamine	

II - Régime normal en phosphore-témoin { 0,3 % P / 0,5 % Ca

Identique au régime appauvri en phosphore sauf

Glucose RAL	385 g.
+ Phosphate monosodique	4,95 g.
+ Phosphate monopotassique	8,17 g.

TABLEAU 7

I - Régime appauvri en Calcium { 0,05 % Ca / 0,3 % P

Mélange salin en %

Phosphate monopotassique	53,9 %
Chlorure de potassium	19,1 %
Chlorure de sodium	12,3 %
Carbonate de magnesium	4,3 %
Sulfate de magnesium $7H_2O$	2,9 %
Oxalathe de fer $2H_2O$	2,9 %
Fluorure de sodium	0,189 %
Sulfate de cuivre $5H_2O$	0,189 %
Alun de Potassium	0,036 %
Iodure de Potassium	0,013 %
Sulfate de magnesium H_2O	0,007 %

Composants pour 1 kg de poudre.

Mélange salin	20,68 g.
Levure	30 g.
Caséine lactique	180 g.
Amidon froment	300 g.
Glucose RAL	389,32 g.
Huile d'arachide	80 g.

II - Régime normal en calcium - Témoin {0,5 % Ca / 0,3 % P

Identique au régime appauvri en calcium, sauf :

Glucose RAL	371,82 g.
et + carbonate calcium	17,5 g.

TABLEAU 8

REGIME NORMAL U.A.R.

Analyse moyenne (%)	
Humidité	12
Matières minérales	6,8
Matières cellulosiques	3
Matières azotées totales	22
Matières grasses	5,4
Extrait non azoté (sucre amidon)	50,8

Teneurs en minéraux (mg/kg)	
Phosphore	8.500
Calcium	9.700
Potassium	6.300
Sodium	3.200
Magnesium	1.330
Manganèse	75
Fer	253
Cuivre	25
Zinc	78
Cobalt	1,56
Iode (sous forme assimilable par algues marines)	

Vitamines (µ.i pour 100 kg)	
A	2.520.000
D^3	601.000
B^1	750
B^2	1.300
B^3	3.700
B^6	560
B^{12}	6
E	12.300
K^3	525
P.P	9.500
Ac. Folique	75
Ac. P.A.B.	50
Biotine	15
Choline	210.000
	100

D

MESURE D'UN COEFFICIENT " λ " DE FUITE DU RADIO-CALCIUM HORS DU POOL SANGUIN, EN FONCTION DE DIVERS ETATS PATHOLOGIQUES

D - I - CONDITIONS D'OBTENTION DES DONNEES - MATERIEL ANIMAL

Trois conditions pathologiques bien connues pour modifier le métabolisme osseux calcique ont été choisies : la parathyroïdectomie, la carence en phosphore et la carence en calcium. Pour chacune de ces conditions, les courbes de décroissance de la radioactivité sanguine du calcium ont été enregistrées en continu par la technique précédemment décrite ; puis l'ensemble des données sanguines a été traitée sur ordinateur.

Au moment du sacrifice de chaque animal, les fémurs sont prélevés, pesés, séchés, minéralisés, puis dissous dans l'acide chlorhydrique 0,1 N_4 ; les émissions β^- du ^{45}Ca sont comptées en scintillation liquide, à l'aide d'un appareil intertechnique SL 40.

Matériel animal : Les animaux sont des rats ♂ de race Sherman, âgés de 10 semaines. Ils sont divisés en quatre groupes :

- un groupe de 15 rats témoins, subdivisés en trois sous-groupes :
  . un sous-groupe de 5 rats recevant un régime normal, témoin du régime appauvri en phosphore (tableau 6-II)
  . un sous-groupe de 5 rats recevant un régime normal, témoin du régime appauvri en calcium (tableau 7- II)
  . un sous-groute de 5 rats ayant subi un simulacre d'opération, au niveau de la parathyroïde, et recevant un régime normal, sous forme de bouchons (tableau 8)
- un groupe de 8 rats, recevant un régime appauvri en phosphore (0,03 % P, 0,5 % Ca) (Tableau 6-I)

  Une période de sept jours a été choisie, car les effets de la carence en phosphore chez le rat sont très rapides, et dès le deuxième jour de la mise en carence, l'élimination urinaire du calcium peut déjà être multipliée par un facteur 50.
- un groupe de 6 rats, recevant un régime appauvri en calcium (0,06 % Ca, 0,3 % P (Tableau 7-I). Une plus longue période de 15 jours de mise en régime carencé a été choisie, car les effets d'un tel régime sur des rats

de dix semaines, sont moins rapides que ceux provoqués par le régime appauvri en phosphore.

- un groupe de 6 rats recevant un régime normal et ayant subi une parathyroïdectomie. La cinétique sanguine calcique est étudiée trois semaines après l'intervention chirurgicale. A cette date, la calcémie est en effet stabilisée aux environs de 60 γ/ml.

La destruction des parathyroïdes "externes" au thermocautère a été choisie de préférence à l'ablation chirurgicale. Cette technique permet d'éviter les hémorragie thyroïdiennes qui parviennent au cours de l'intervention chirurgicale. De plus, elle donne une plus grande sécurité quant à l'élimination totale du tissu parathyroïdien. La destruction totale des parathyroïdes peut être vérifiée par les modifications métaboliques qu'elle détermine. La valeur de la calcémie, inférieure à 80 γ/ml, a été choisie comme critère de la validité de la parathyroïdectomie.

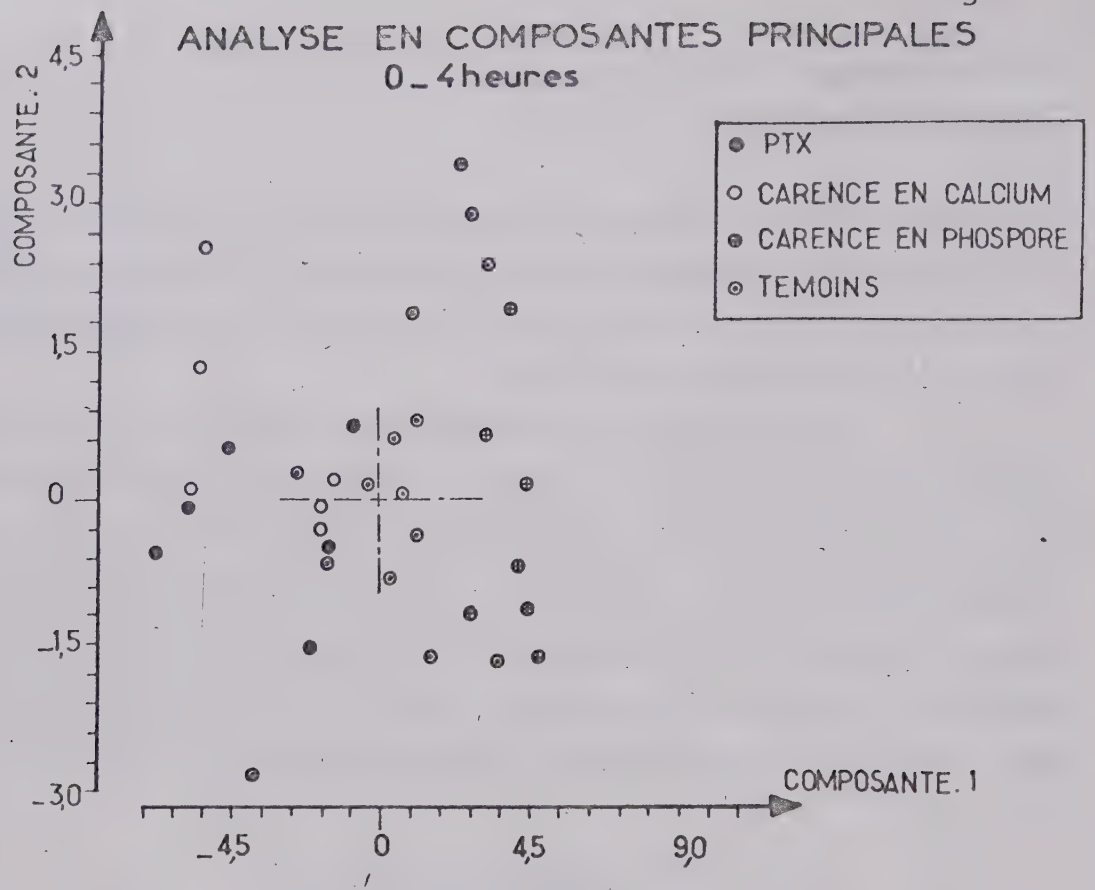
D - II - METHODES D'ANALYSE

II - 1 - L'analyse en composantes principales

Dans un premier temps, puisque l'Analyse en Composantes Principales permet le classement, la comparaison et, si elle existe, la différenciation des animaux, nous l'avons utilisée pour étudier sans hypothèse a priori, toutes les données sanguines brutes concernant les différents groupes de rats pathologiques et normaux. Il était, en effet, intéressant de savoir si, dès les temps précoces après l'injection du radiocalcium, il existait déjà une corrélation entre un trouble du métabolisme et une modification de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine calcique. Dans le cadre de cette analyse, nous avons choisi de prendre un point toutes les 300 secondes, soit une quarantaine de points communs pour une expérience de quatre heures. La durée de quatre heure a été choisie pour deux raisons : d'une part pour supprimer la seconde composante principale précédemment mise en évidence à partir des courbes enregistrées pendant six heures, et qui n'était en corrélation qu'avec les points expérimentaux aux environs de la cinquième heure ; d'autre part pour accorder ainsi une importance relative plus grande aux autres composantes.

La courbe globale a tout d'abord été analysée, puis des portions de la

Figure 9



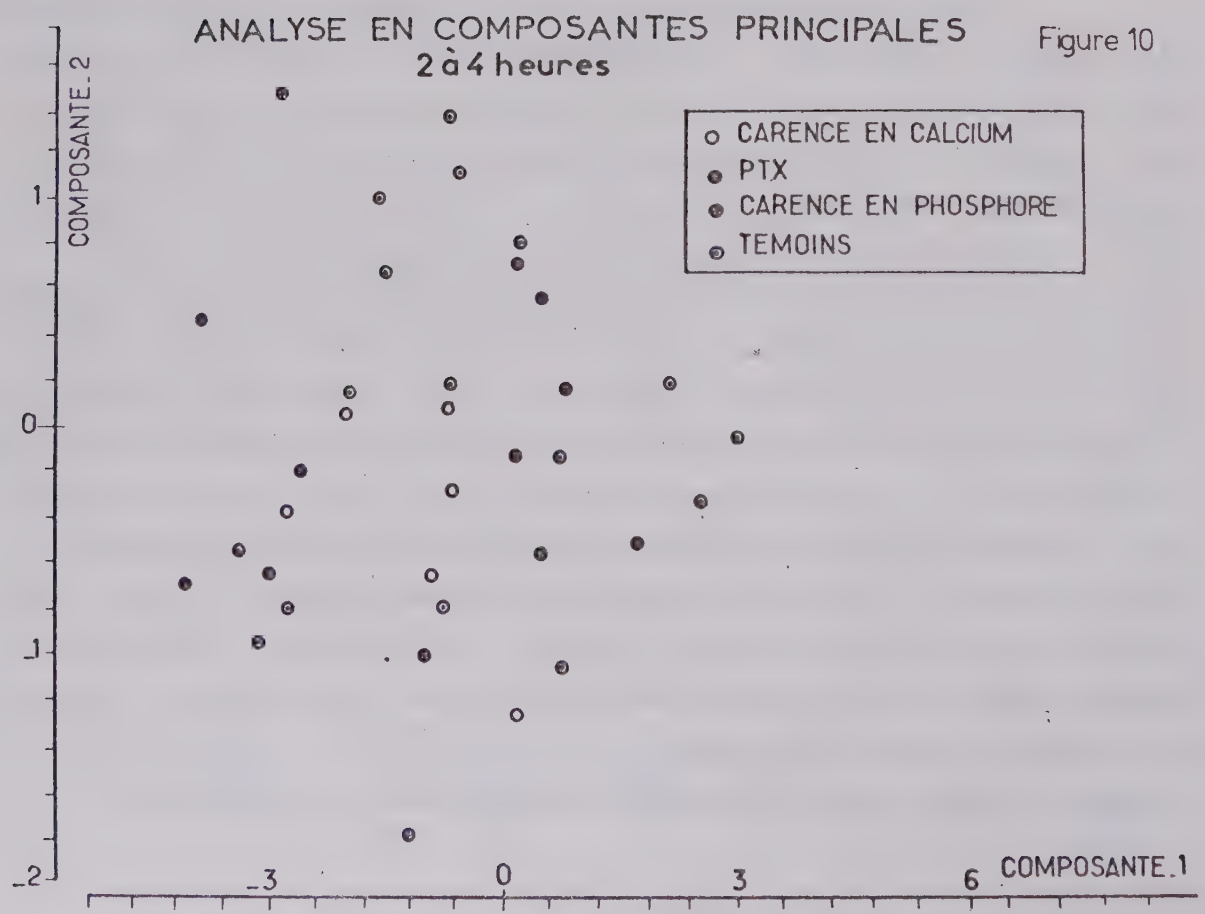


Figure 10

courbe globale ont été traitées par l'analyse en composantes principales, afin de voir si les résultats obtenus à partir de l'analyse globale concordaient ou apparaissaient plus nets dans l'analyse par portions de courbe ; cela pouvait permettre de sélectionner pour l'analyse fonction de puissance, la portion de courbe la plus intéressante.

Enfin, pour avoir une idée de l'amplitude relative de la dispersion des vitesses d'épuration sanguine du ^{45}Ca, d'autres radioéléments dont le métabolisme et les courbes de décroissance de la radioactivité sanguine sont très différents du calcium, ont été étudiés par l'analyse en composantes principales.

- 1/ le DTPA^{177}Lu, ou diéthylène triamine penta acétate de lutétium, qui est un complexe monodispersé s'épurant complètement et rapidement du sang par filtration glomérulaire (71) ;
- 2/ le ^{237}Np , qui injecté sous forme d'un complexe instable de DTPA, se lie aux protéines sanguines et s'épure très lentement du sang (90).

III - RESULTATS

III - 1 - RESULTATS DE L'ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES

III - 1.1 Analyse globale de la courbe (0-4 heures)

Les résultats montrent que la presque totalité (95 %) de l'information est supportée par la composante principale 1 (C.P. 1), la deuxième composante ne résumant que 5 % de l'information.

Il existe une différenciation des groupes en fonction de cette première composante : en effet, le groupe de rats parathyroïdectomisés ainsi que celui des rats ayant ingéré un régime appauvri en calcium, se séparent du groupe témoin ainsi que de celui des rats ayant reçu un régime carencé en phosphore (Fig. 9 et tableau 9)

III - 1.2 Analyse par portions de courbe.

Du début de la courbe à deux heures, il reste la même différenciation de groupes, en fonction de la première composante (Tableau 10). De deux heures à quatre heures après l'injection, les groupes de rats ne se différencient plus (Figure 10).

Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait suivant :

TABLEAU 9

VALEURS MOYENNES DE LA COMPOSANTE PRINCIPALE 1,
EN FONCTION DES CONDITIONS EXPERIMENTALES

0 - 4 heures	
	C.P. n° 1
Témoins (n = 11)	+ 1,2 ± 0,2
Carence en Phosphore (n = 6)	+ 3,9 ± 0,4 *
Carence en calcium (n = 6)	- 3,5 ± 1,3 *
Parathyroïdectomisés (n = 6)	- 3,6 ± 1,2 *
+ différence significative par rapport aux témoins p<0,02	

TABLEAU 10

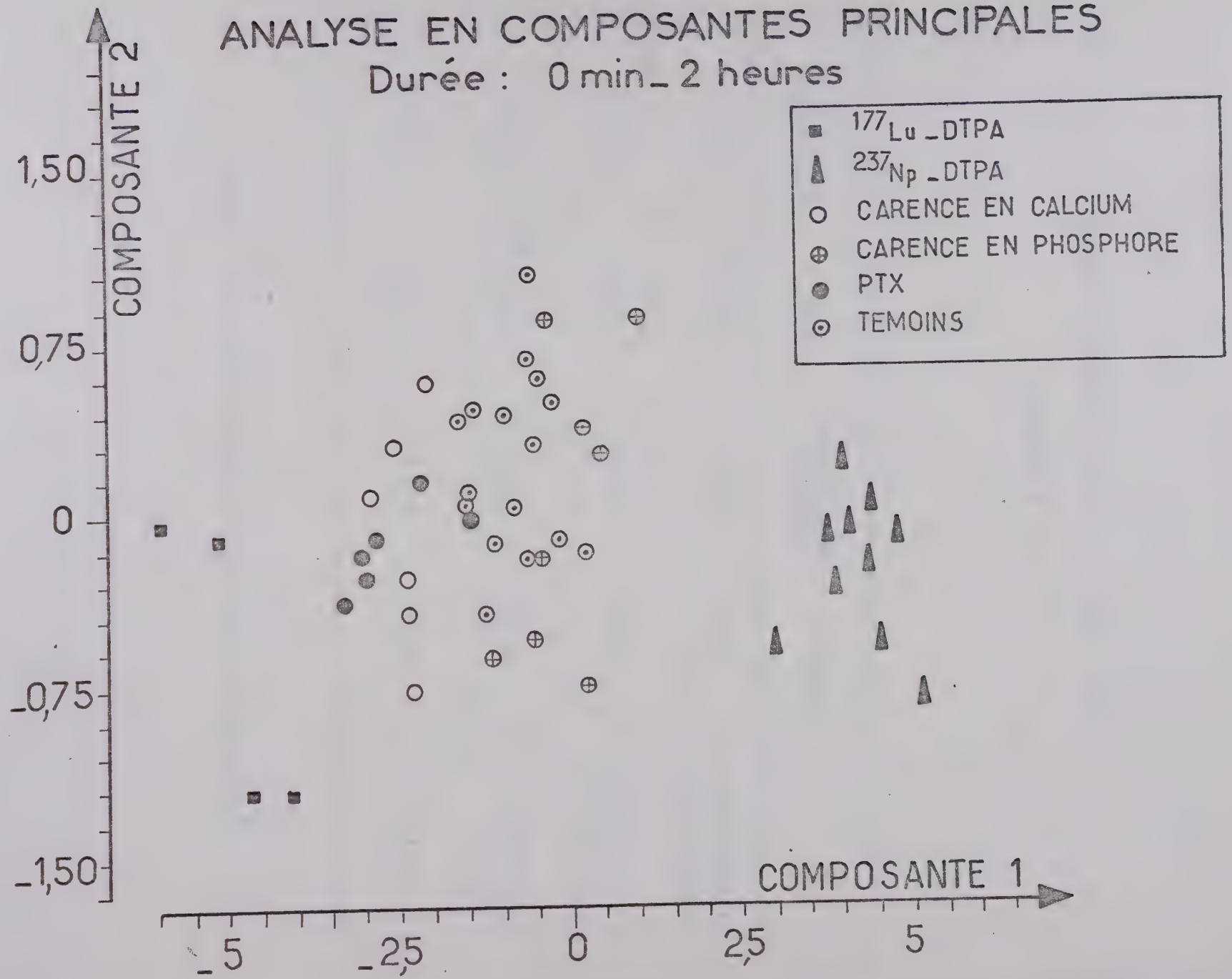
VALEURS DES "λ" DES DIFFERENTS MODELES

0 - 2 HEURES

	TEMOINS	CARENCE EN PHOSPHORE	PTX	CARENCE EN CALCIUM
COMPOSANTE PRINCIPALE I	- 0,57	- 0,14 *	- 1,72 *	- 2,21 *
λ FONCTION DE PUISSANCE	- 0,50	- 0,43 *	- 0,62 *	- 0,62 *
λ EXPONEN-TIELLE	- 0,009	- 0,008	- 0,0 11*	- 0,011*
λ DROITE	- 0,59	- 0,51 *	- 0,66 *	- 0,64 *

* différence significative par rapport aux témoins.

Figure 11


ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES
Durée : 0 min_ 2 heures
177Lu _DTPA
237Np _DTPA
CARENCE EN CALCIUM
CARENCE EN PHOSPHORE
PTX
TEMOINS
COMPOSANTE 2
1,50
0,75
0
_0,75
_1,50
COMPOSANTE 1
_5
_2,5
0
2,5
5

- du temps initial d'injection aux environs de la deuxième heure, plus de 60 % du radiocalcium injecté se trouve localisé au niveau du squelette, et dès lors, de faibles variations de la cinétique sanguine peuvent être mises en évidence ; au contraire, de la seconde heure à la quatrième heure, seulement de l'ordre de 5 % du radiocalcium injecté est épuré par le squelette, cette faible valeur ne permettant pas, à la précision des mesures, de mettre en évidence une différenciation des cinétiques.

III - I.3 - Comparaison des cinétiques calciques sanguines et des cinétiques d'éléments différents.

Les radioéléments complexés constituent deux groupes nettement séparés du groupe calcium (figure 11). En effet, le groupe des animaux ayant reçu le complexe DTPA-177 Lu , représentatif d'une cinétique d'épuration sanguine rapide, est placé à gauche du "groupe calcium", tandis que le groupe des rats ayant reçu le complexe DTPA-237 Np , représentatif d'une cinétique d'épuration sanguine plus lente, est situé à droite du "groupe calcium"

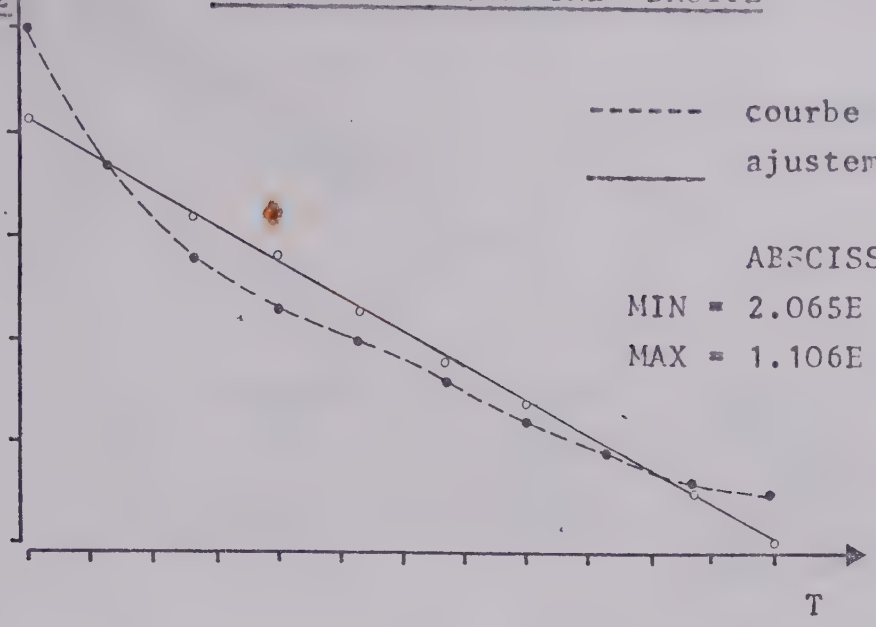
Toutes ces observations permettent de conclure :

- que la composante C.P.1 peut représenter un indice de la vitesse d'épuration sanguine ;
- que la composante C.P.1 supportant 95 % de l'information, un modèle mathématique ne comportant qu'un seul paramètre caractéristique de la vitesse d'épuration sanguine du radiocalcium devrait donc suffire pour représenter les courbes sanguines ;
- qu'il suffit d'étudier les modèles proposés pendant les deux premières heures après l'injection du radiocalcium, fraction du temps pendant laquelle les différences entre les groupes sont particulièrement significatives.

III - 2 - RESULTATS DES AJUSTEMENTS SUR UNE FONCTION DE PUISSANCE ET DEUX MODELES MATHEMATIQUES SIMPLES (de 0 à 2 heures)

o Les coefficients de pente des droites d'ajustement sur des fonctions de puissance, différentielle, ou linéaire, (Fig. 12, 13, 14) classent et différencient les animaux comme la composante principale 1 (Tableau 11) et les différences de vitesse d'épuration sanguine entre animaux pathologiques et normaux sont bien significatives pour toutes les méthodes utilisées.

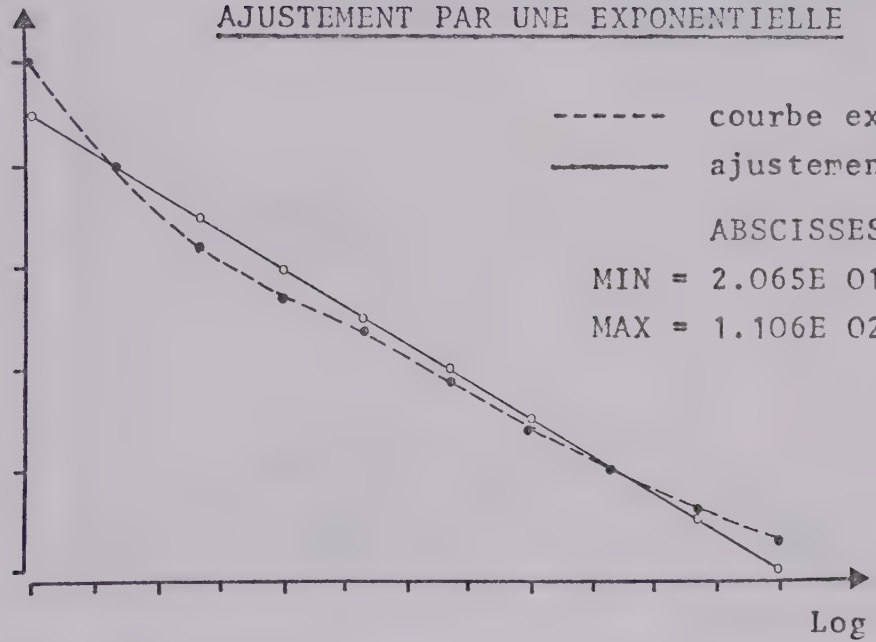
FIGURE 12 AJUSTEMENT PAR UNE DROITE



------ courbe expérimentale
——— ajustement de la courbe

	ABSCISSES	ORDONNEES
MIN =	2.065E 01	3.635E 01
MAX =	1.106E 02	1.000E 02

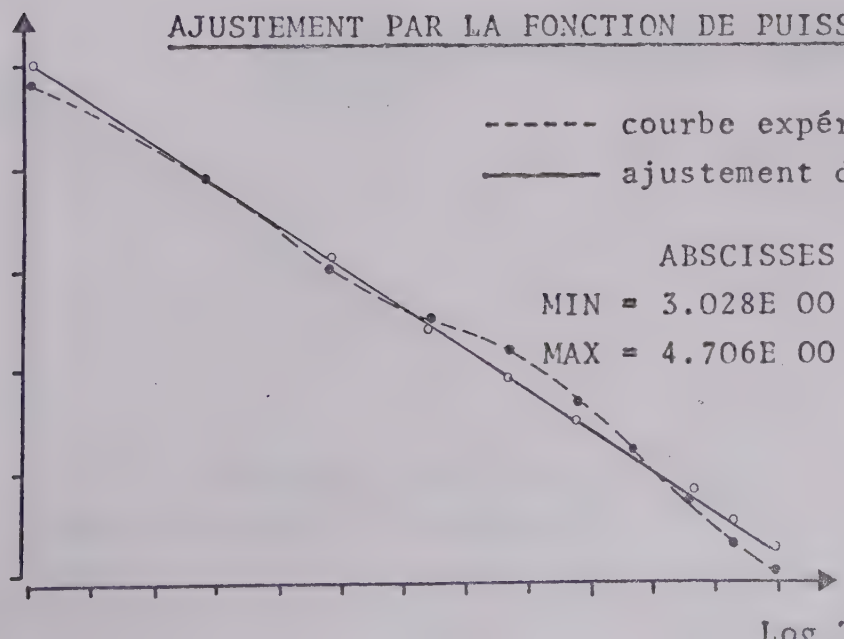
FIGURE 13 AJUSTEMENT PAR UNE EXPONENTIELLE



------ courbe expérimentale
——— ajustement de la courbe

	ABSCISSES	ORDONNEES
MIN =	2.065E 01	3.609E 00
MAX =	1.106E 02	4.605E 00

FIGURE 14 AJUSTEMENT PAR LA FONCTION DE PUISSANCE



------ courbe expérimentale
——— ajustement de la courbe

	ABSCISSES	ORDONNEES
MIN =	3.028E 00	3.740E 00
MAX =	4.706E 00	4.633E 00

FIGURE 15

λ de la droite

RELATION LINEAIRE ENTRE LA COMPOSANTE PRINCIPALE 1 ET LE λDE LA DROITE

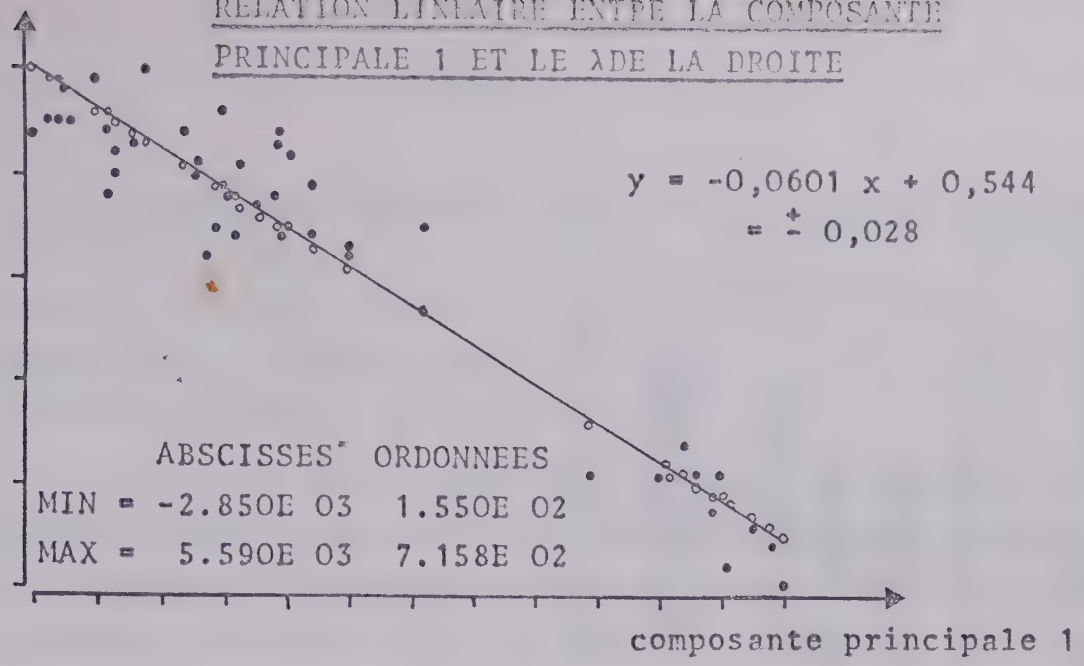


FIGURE 16

λ DE L'EXPONENTIELLE

RELATION LINEAIRE ENTRE LA COMPOSANTE PRINCIPALE 1 ET LE λ DE L'EXPONENTIELLE

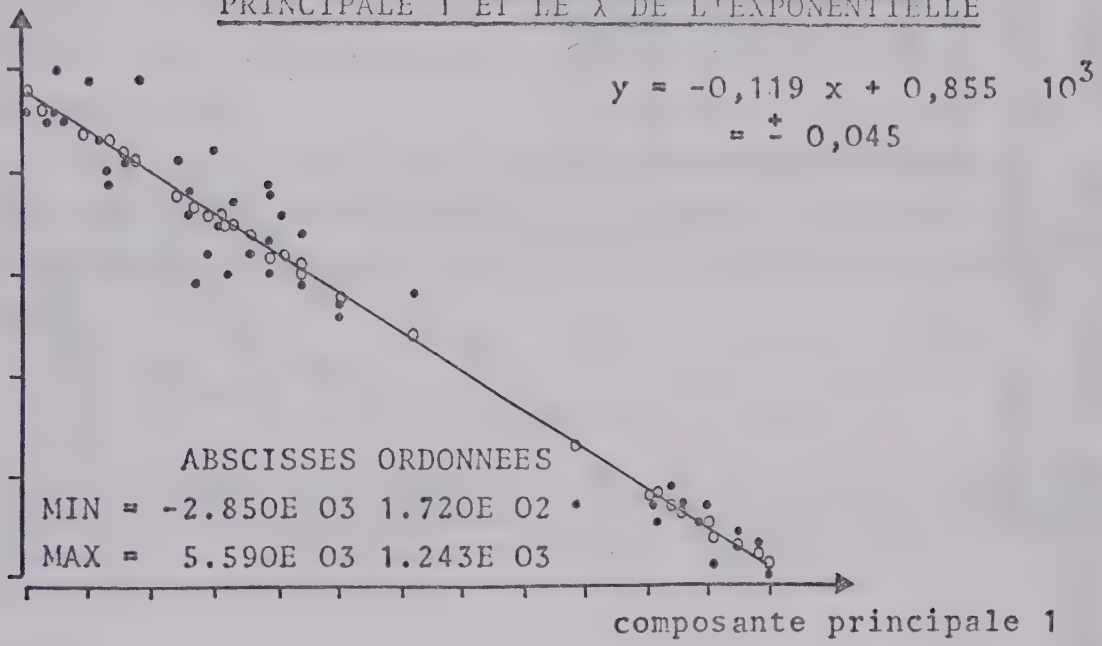


FIGURE 17

λ FONCTION DE PUISSANCE

RELATION LINEAIRE ENTRE LA COMPOSANTE PRINCIPALE 1 ET LE λ DE LA FONCTION DE PUISSANCE

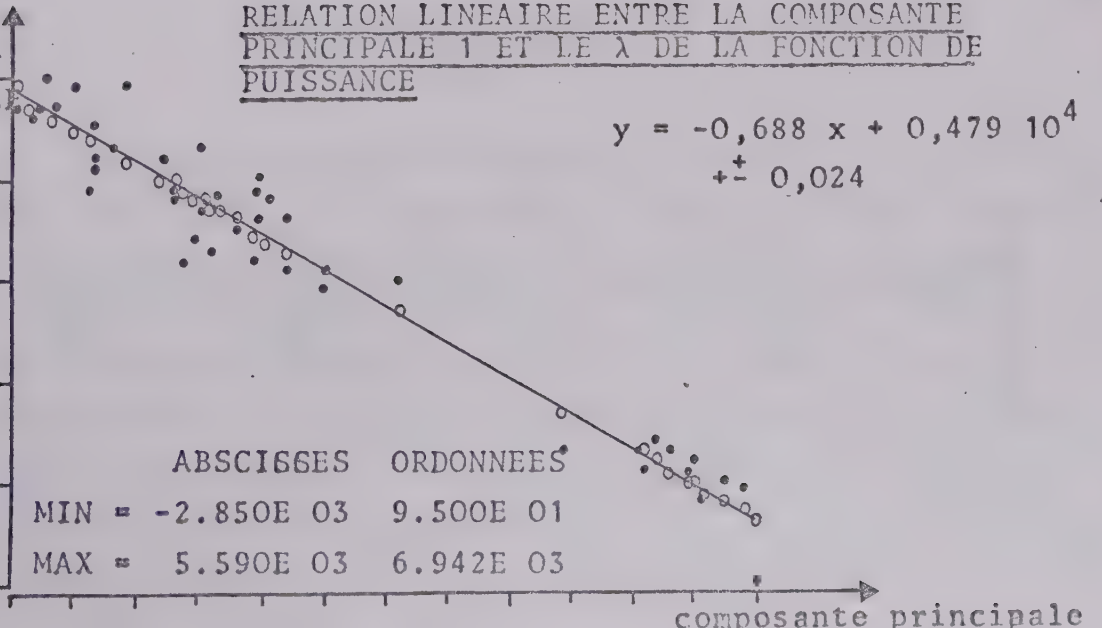
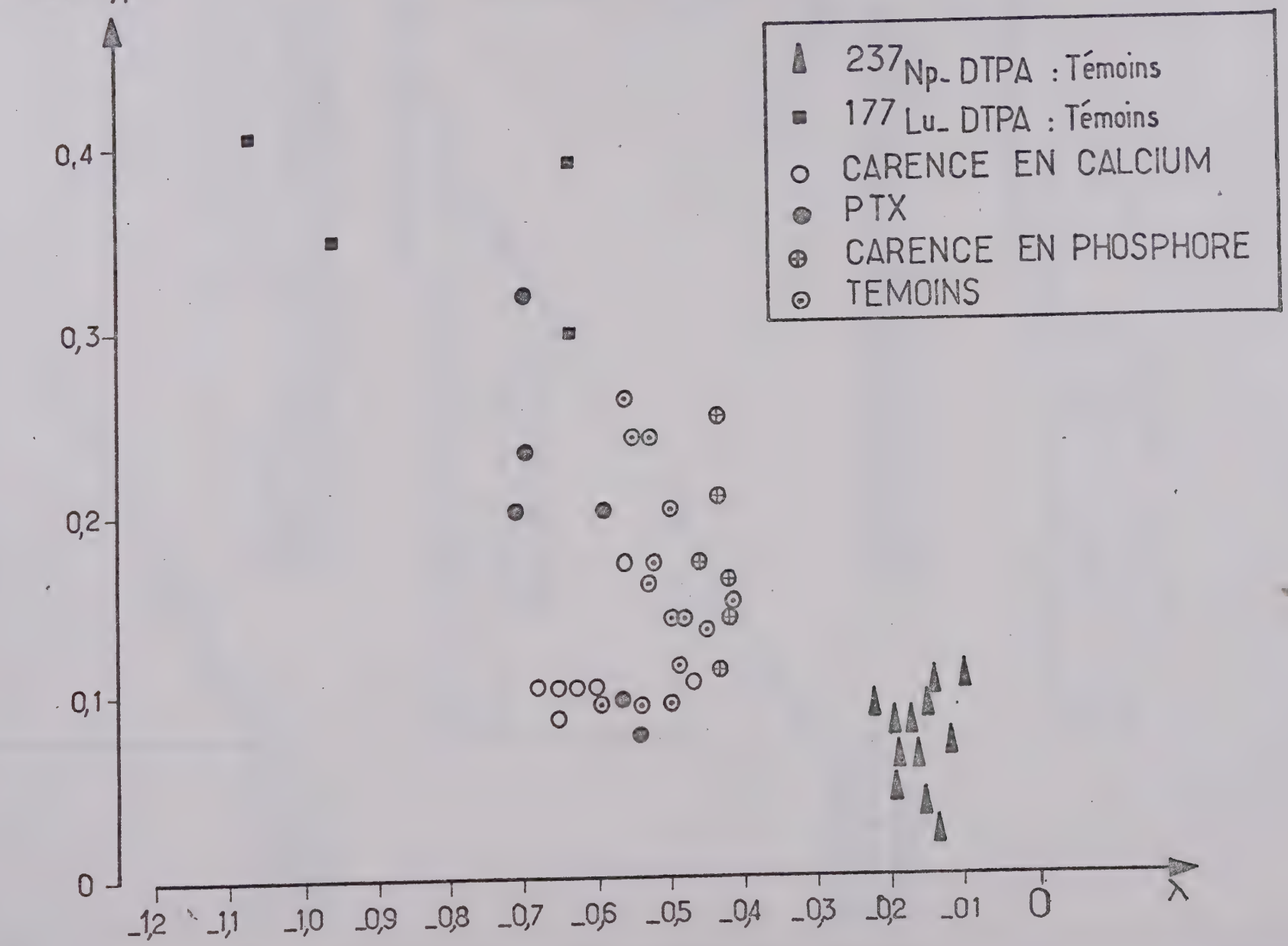


Figure 18

ANALYSE PAR LA FONCTION DE PUISSANCE

Durée: 0 min _ 2 heures



- Il existe une corrélation entre les coefficients de pente et la C.P.1 (Fig. 15, 16, 17).

pour la droite $y = -0,0601\ x + 0,544\ 10^{-3}$

pour l'exponentielle $y = -0,119\ x \cdot 0,855\ 10^{-3}$

pour la fonction de puissance $y = -0,688 \cdot x + 0,479\ 10^{-4}$

- Le nuage de points obtenu avec les coefficients de pente de la fonction de puissance, d'une part et les coefficients représentatifs de la qualité de l'ajustement correspondants d'autre part, est comparable au nuage de points obtenus avec C.P.1 et C.P.2 (Fig. 18).

Dans un dernier temps, nous avons recherché s'il existait une corrélation entre les données osseuses et les données sanguines, pendant ces temps courts après l'introduction du radiocalcium.

III -3 - Recherche d'une corrélation entre les données osseuses et les données sanguines.

Pour chaque animal, les résultats montrent qu'il existe une corrélation entre le coefficient de pente de la fonction de puissance et la valeur représentative de la charge osseuse en ^{45}Ca. Cette dernière est caractérisée par le rapport :

$$\frac{C/mn\ ^{45}Ca\ g/OS}{C\ mn\ ^{45}Ca\ sang\ de\ référence\ (x)}$$

(x) Pour pouvoir comparer les animaux entre eux, la valeur de la radioactivité captée par le squelette est pondérée par la valeur radioactive sanguine de référence choisie : le maximum de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine calcique.

Les résultats sont exposés dans le tableau 11.

COMMENTAIRES

En fonction des résultats obtenus à l'aide du ^{177}Lu - DTPA, du ^{23}Np - DTPA et du $^{45}Ca\ Cl_2$, la composante CP 1 peut s'interpréter comme un indice de la cinétique sanguine d'épuration de ces éléments. Il est donc possible, dès les deux premières heures après l'injection du ^{45}Ca, de différencier les cinétiques calciques des groupes de rats soumis à diverses conditions pathologiques : les rats ayant ingéré un régime appauvri en calcium, ainsi que les rats parathyroïdectomisés, ont une vitesse d'épuration sanguine du ^{45}Ca plus rapide que celle des rats témoins, tandis que les rats ayant ingéré un régime appauvri en phosphore ont une vitesse d'épuration plus lente.

TABLEAU 11

CORRELATION DONNEES OSSEUSES - DONNEES SANGUINES

Temps sacrifice mn	Témoins		PTX		Carence Calcium		Carence Phosphore	
	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y
120'	39,5	0,45	47,7	0,55	45	0,65	32,3	0,31
	40	0,52	46	0,61	40	0,67	35	0,36
	41,2	0,49						
240'	37,1	0,44	49,2	0,60	56	0,71	38,2	0,34
	41	0,49	50,1	0,55	50	0,65	37	0,38
	41,1	0,50	48	0,60	53	0,70		
	42	0,42	52	0,60				
	42,3	0,40						

$$X = \frac{\text{Activité c/mn } {}^{45}\text{Ca g/os}}{\text{Activité c/mn } {}^{45}\text{Ca sanguine de référence}}$$

Y = coefficient de pente de la droite de regression

D'autre part, les modèles mathématiques étudiés mettent également en évidence une différenciation des cinétiques calciques dès les deux premières heures après l'injection du ^{45}Ca. L'existence d'une corrélation entre la composante principale CP 1 et les coefficients de pente des diverses droites d'ajustement confirme que cette CP 1 est bien liée au paramètre d'épuration sanguine du ^{45}Ca; la meilleure corrélation est obtenue pour la fonction de puissance, et la plus faible pour la droite.

La comparaison des valeurs de la composante principale CP 2 avec les coefficients représentatifs de la qualité des ajustements confirme que cette composante CP 2 est bien liée à la structure de la courbe et non à sa pente.

Enfin, dans le cas de la recherche d'une corrélation entre les données osseuses et les données sanguines, on constate que lorsque le coefficient de pente de la fonction de puissance est augmenté, la valeur représentative de la capture osseuse en ^{45}Ca est également augmentée (cas des rats parathyroïdectomisés et des rats ayant reçu un régime carencé en calcium), alors qu'elle est diminuée lorsque le coefficient de pente de la fonction de puissance est plus faible (cas des rats ayant ingéré un régime carencé en phosphore). Ce résultat semble logique, puisque le squelette est le seul organe qui capture le calcium. Pendant les deux premières heures après l'injection du ^{45}Ca, de l'ordre de 60 % du ^{45}Ca injecté, est passé du sang vers le squelette. Une fraction de ces 60 % doit subir un simple processus de dispersion dans les fluides osseux extra-cellulaire , et l'autre fraction doit être captée par le squelette. C'est ce dernier processus qui doit surtout expliquer les différences obtenues dans l'étude des cinétiques sanguines calciques ; et c'est ce problème que nous aborderons dans les prochaines expériences.

En conclusion, dès les deux premières heures suivant l'injection intraveineuse du radiocalcium, les cinétiques sanguines calciques sont augmentées chez les animaux ayant reçu un régime appauvri en calcium et chez les rats parathyroïdectomisés, tandis que les cinétiques sont diminuées chez les rats ayant ingéré un régime appauvri en phosphore.

L'emploi de la fonction de puissance permet de concentrer en un seul paramètre les courbes d'évolution de la radioactivité sanguine calcique

et de différencier ainsi les groupes d'animaux présentant divers types de pathologie. Il existe, d'autre part, une corrélation entre le coefficient de pente de la fonction de puissance et la valeur représentative de la capture osseuse pendant le temps de la mesure.

Cependant, même si le coefficient de pente de la fonction de puissance est en agrément avec la composante principale 1, la qualité de l'ajustement l'est avec la composante principale 2; en d'autres termes,la forme ou la structure de la courbe dépend de la condition pathologique. Dès lors, l'utilisation de la fonction de puissance pour ajuster les courbes de décroissance de la radioactivité sanguine calcique, pendant les deux premières heures, risque d'entraîner des erreurs dües aux modifications de structure du modèle biologique, liées à des conditions pathologiques. Le choix d'un intervalle de temps (par exemple deux heures) qui serait représentatif d'un certain état, pour des conditions physiologiques, pourrait ne plus l'être pour des conditions pathologiques, affectant profondément le comportement du calcium.

C'est pourquoi nous avons cherché à mettre au point une autre méthode d'analyse de la courbe, qui permette de connaître la quantité de calcium stable quittant le sang par unité de temps, dès les temps courts après l'introduction du radiocalcium.

DEUXIEME PARTIE

ANALYSE DE LA COURBE DE DECROISSANCE DE LA RADIOACTIVITE SANGUINE CALCIQUE PENDANT LES TRENTE PREMIERES MINUTES

- MESURE DE LA CLEARANCE CALCIQUE
- MESURE D'UN PARAMETRE DE CAPTURE RAPIDE DU CALCIUM PAR LE SQUELETTE

A - METHODES D'ANALYSE :

A - I - "METHODE A DEUX ISOTOPES"

I - 1 - Principe général

Comme la plupart des éléments lors de leur introduction dans le sang circulant, le radiocalcium subit à la fois un processus de dispersion dans les fluides extra-cellulaires (des muscles, peau, os, foie, cerveau...) et un processus d'épuration : ce dernier est caractérisé par la fuite au niveau des voies d'excrétion, et par la capture rapide au niveau du squelette.

Le premier processus concerne le radiocalcium sanguin seul, puisque le calcium sanguin stable, préexistant dans l'animal est déjà en équilibre avec le calcium stable des liquides extra-cellulaires. Les deux suivants, fuite par les voies d'excrétion et capture rapide par le squelette, contribuent à assurer ce que nous appellerons " la clearance calcique" .

S'il est relativement facile de quantifier la cinétique des fuites urinaires et fécales, il n'en va pas de même des cinétiques de capture par le squelette. En effet, si le processus de dispersion est perturbé par une condition expérimentale, la mesure de l'épuration elle-même s'en trouve faussée. Et si l'on attend que la dispersion soit terminée, la valeur de l'épuration risque d'être erronée à cause du retour probable dans le sang du radiocalcium capté par le squelette.

Il ne semble pas, en effet, à l'heure actuelle qu'il existe des faits expérimentaux solides qui permettent d'affirmer que ce retour soit nul ou négligeable. La plupart des auteurs qui calculent les paramètres de fixation ou d'accrétion, font seulement l'hypothèse qu'il est très faible, et que seul le calcium stable subit un retour dans le sang à partir du squelette, pendant le temps de la mesure. (S, 6, 9).

Dès lors, pour apprécier le processus d'épuration du radiocalcium, pendant les temps précoces après son injection dans le courant sanguin, il

devient capital de pouvoir suivre simultanément sa cinétique de dispersion dans les espaces extra-cellulaires. En effet, si nous disposons d'un radio-élément non épuré Y, dont la courbe de disparition sanguine est représentative de la seule cinétique de dispersion du radiocalcium X, à la fois dispersé et épuré, nous pourrons à partir de l'évolution du rapport des deux courbes de décroissance sanguine, ajusté sur une exponentielle, calculer le coefficient de pente représentatif de la fraction de volume sanguin, s'épurant du radiocalcium X par unité de temps. Cette méthode d'étude n'impose pas que l'épuration soit totale à chaque passage au niveau de l'organe capteur, et le fait que l'épuration sanguine soit calculée pendant un temps très court après l'introduction des deux radio-éléments, réduit au maximum l'erreur à un éventuel retour du radiocalcium dans le sang. Cette "méthode à 2 isotopes" permet ainsi de calculer "la clearance" du calcium et le paramètre de capture rapide du calcium par le squelette.

1 - 2 - Choix de l'élément représentatif de la dispersion du radiocalcium.

Pour suivre la cinétique de dispersion du radiocalcium, le ^{24}Na a été choisi pour les raisons suivantes :

- la constante de liaison du calcium avec les protéines plasmatiques est suffisamment faible pour que l'hypothèse selon laquelle le calcium se répartirait dans un espace de dispersion proche de celui du sodium, puisse être faite (70)

- chez le rat, le sodium se distribue essentiellement dans les liquides extra-cellulaires (27, 30, 45, 85) ; en outre, le temps pendant lequel nous pratiquerons nos mesures (30 mn), est celui que met le ^{24}Na, chez le rat, à s'équilibrer dans le volume extra-cellulaire, ce qui exclut les phénomènes intervenant à plus long terme, tels que son incorporation dans la fraction non échangeable de l'os (8, 35). En outre, pendant les trente premières minutes suivant son injection dans le sang, chez le rat, l'élimination du ^{24}Na par les voies d'excrétion est négligeable devant l'importance du processus de dispersion dans les fluides extra-cellulaires (de l'ordre de 1 ‰ de la radioactivité totale injectée). Le radiobrome ou le radiochlore sont couramment cités dans la littérature (30, 64, 93), mais ils ont tendance à se concentrer dans l'estomac pendant les temps précoces après leur injection (56, 62), entraînant ainsi une fuite non négligeable hors des espaces extra-cellulaires (105, 106). Le sulfate et le thiosulfate sont également utilisés (87, 100), mais d'une part, le ^{35}S émet un rayonnement β^- faiblement

énergétique, ce qui rendait inutilisable notre dispositif technique, et que d'autre part, le sulfate semble très rapidement métabolisé (26, 86).

Un certain nombre de vérifications ont été effectuées pour tester la justification du choix du ^{24}Na

a) La première vérification est une vérification indirecte.

Le moyen idéal eut été de supprimer l'organe capteur du calcium, en l'occurrence le squelette. Comme ceci est difficilement réalisable à l'heure actuelle, nous avons suivi simultanément, à l'aide du ^{24}Na, la cinétique de dispersion d'une autre substance, qui après son injection dans le sang circulant, est à la fois dispersée dans les fluides extra-cellulaires et totalement épurée par un organe, le rein, qu'il est facile de supprimer. Cette substance est le DTPA ou acide diethylène triamine penta acétique. Car si une molécule, telle que le DTPA, d'un poids moléculaire peu élevé de 400, diffuse chez le rat néphrectomisé dans un volume de dispersion comparable à celui du ^{24}Na et avec la même vitesse, il peut en être de même pour le calcium qui n'est qu'un cation que très faiblement lié aux protéines sériques. D'autre part, chez le rat normal, la méthode à deux isotopes permettait de calculer la clearance rénale du DTPA, de confronter les résultats ainsi obtenus aux valeurs citées dans la littérature, et de tester la validité de la méthode elle-même.

Le complexe DTPA^{147}Pm a été choisi, car l'énergie du rayonnement β^- du Promethium -147 (230 KeV), est très proche de celle du ^{45}Ca et permettait ainsi d'utiliser le même dispositif expérimental.

b) La seconde vérification, plus directe, suit simultanément la dynamique de répartition du ^{24}Na et du ^{47}Ca, dans divers organes où ces deux radioéléments sont seulement susceptibles de se disperser : le fois, le cerveau et le muscle. En étudiant les rapports SANG/FOIE, SANG/CERVEAU et SANG/MUSCLE, respectivement pour le ^{24}Na et le ^{47}Ca, de 0 à 30 mn, les dynamiques de dispersion des deux radioéléments dans ces organes ont été comparés.

D'autre part, la clearance du calcium peut être calculée à l'aide de l'étude de l'évolution simultanée des deux courbes de décroissance sanguine du ^{24}Na et du radiocalcium, et si le ^{24}Na est bien représentatif de la dispersion du radiocalcium, la valeur de la clearance du calcium doit pouvoir être recalculée à l'aide de l'étude de l'évolution de la répartition du ^{24}Na et du radiocalcium dans le squelette. En effet, pendant ces temps

courts, le ^{24}Na ne subit qu'un processus de dispersion dans les fluides osseux, tandis que le ^{47}Ca, à la fois se disperse dans ces mêmes fluides et est capté par le squelette. Dès lors, chez l'animal normal, si l'évolution du rapport des courbes ^{47}Ca / ^{24}Na sanguines s'ajuste sur une exponentielle dont le coefficient de pente "λ" est identique au coefficient de pente de l'exponentielle sur laquelle est ajustée l'inverse du rapport des courbes ^{47}Ca / ^{24}Na osseuses, il existe une forte probabilité pour que la méthode utilisant le ^{24}Na comme élément représentatif de la dispersion du radiocalcium, soit valable.

c) une troisième vérification plus mathématique , étudie l'ajustement de la courbe d'évolution de la radioactivité sanguine calcique pendant les trente premières minutes sur une fonction combinée de la forme :

$$Y = A_1 \cdot e^{-\lambda_1 (t - 1)} \cdot t^{\lambda}$$

combinaison :

- d'une fonction exponentielle, représentative de la fonction d'épuration (λ_1)
- d'une fonction de puissance représentative de la fonction de dispersion (λ_2).

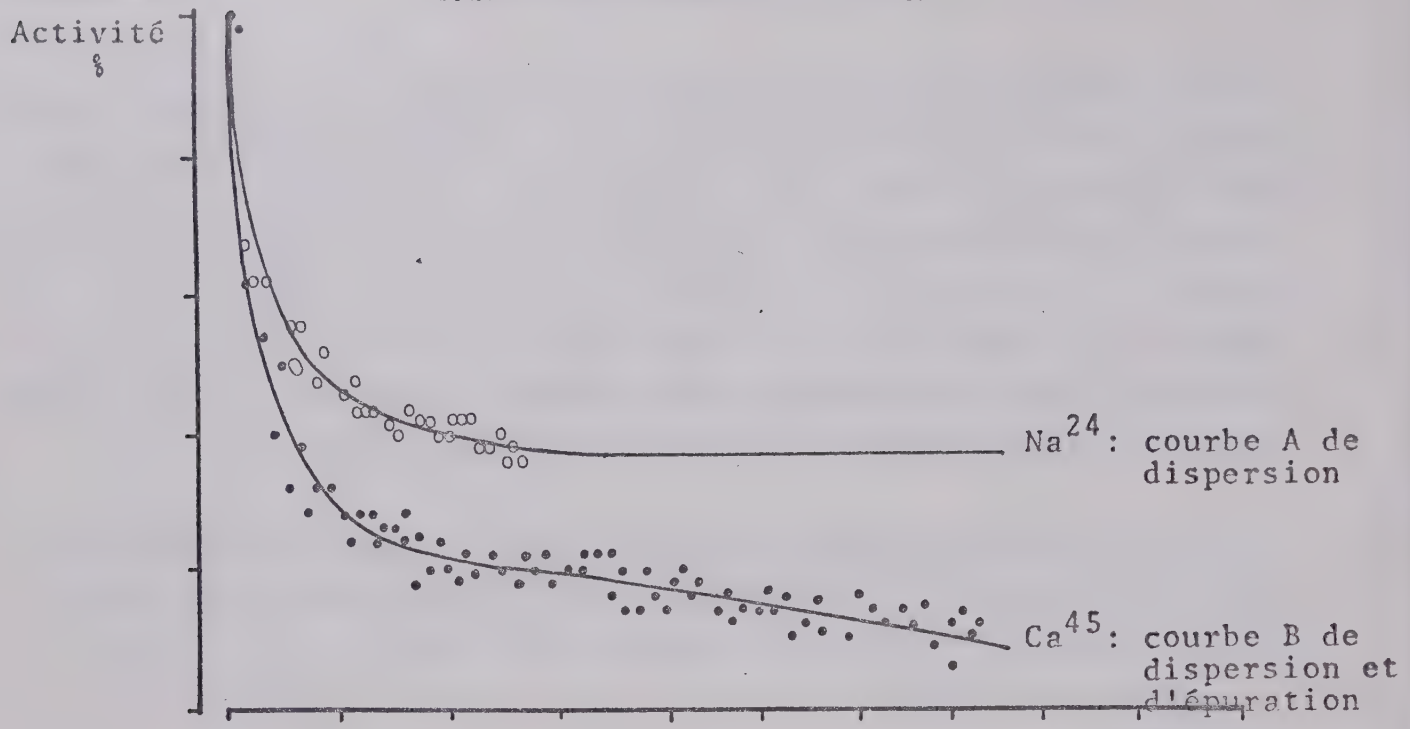
Puis elle compare la valeur du coefficient de pente λ_1 à celle du coefficient de pente calculé expérimentalement d'après le rapport des courbes qanguines ^{45}Ca / ^{24}Na, ainsi que la valeur du coefficient de pente λ_2, à celle du coefficient de pente de la fonction de puissance sur laquelle est ajustée la cinétique sanguine du ^{24}Na. Ceci dans le but de vérifier qu'il peut exister une bonne similitude des résultats obtenus expérimentalement à l'aide du ^{24}Na, et obtenus par le calcul mathématique.

I - 3 .-*Modèle utilisé* (fig. 19)

Pendant la première minute suivant leur injection simultanée dans le sang les deux radioéléments ^{24}Na et ^{45}Ca se dispersent rapidement et mécaniquement dans un petit volume que nous avons appelé volume de dispersion initial (V İ). Le temps 1 mn correspond approximativement au moment où la courbe d'évolution de la radioactivité sanguine calcique enregistrée en continu depuis le temps zéro de l'injection, subit un infléchissement après une montée rapide. Un temps analogue a déjà été cité par un autre auteur (109). Comme les processus de dispersion dans les espaces interstitiels commencent avant même la fin de la dispersion mécanique dans le plasma, le volume initial est un peu plus grand que le volume plasmatique.

FIGURE 20

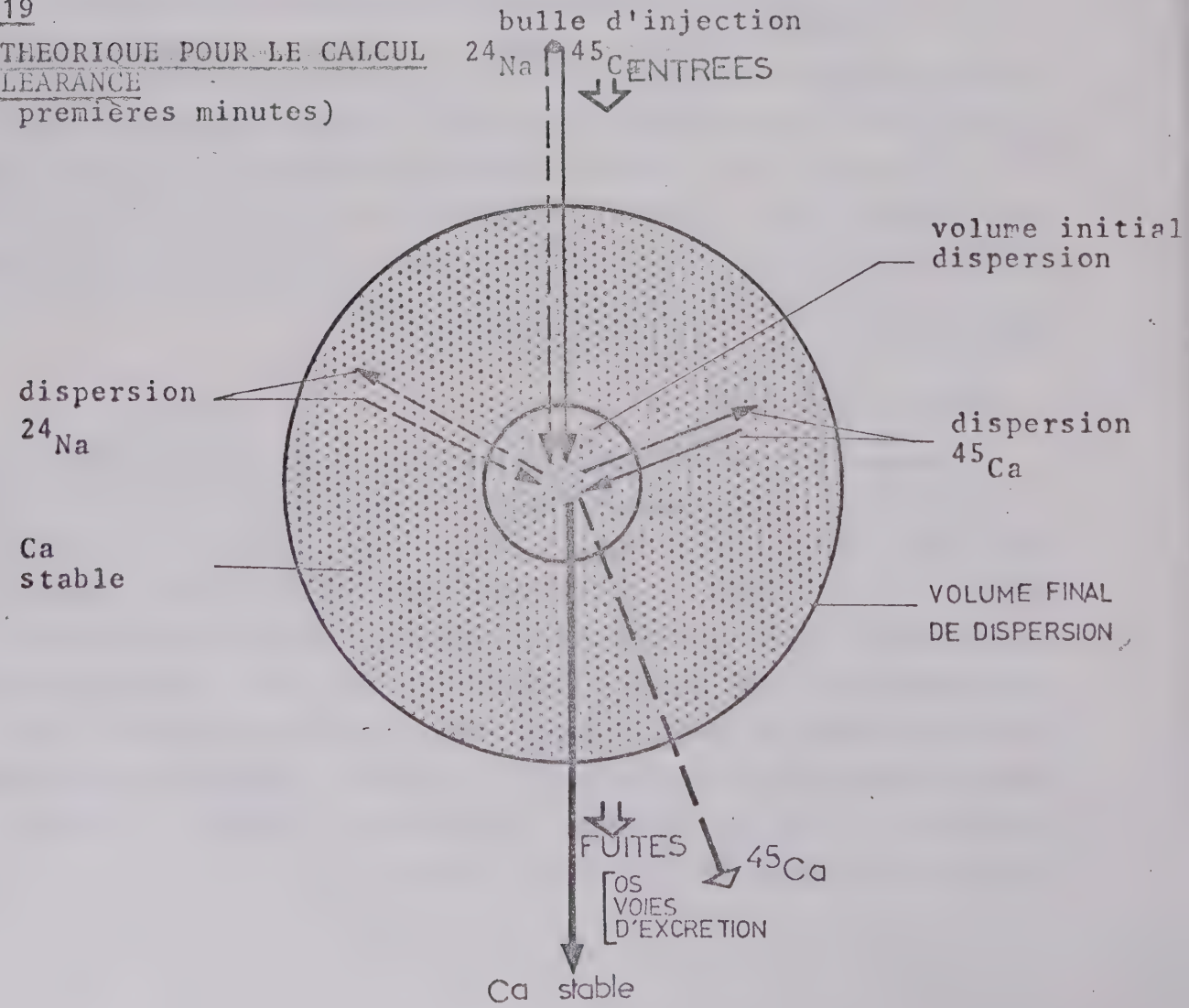
EVOLUTION SIMULTANEE DE LA RADIOACTIVITE SANGUINE DU ^{45}Ca ET DU ^{24}Na



	ABSCISSES	ORDONNEES
MIN =	1.333E 00	1.000E-01
MAX =	1.600E 02	1.000E-02

FIGURE 19

MODELE THEORIQUE POUR LE CALCUL DE LA CLEARANCE
(les 30 premières minutes)



- ce volume s'étend progressivement pour atteindre en une trentaine de minutes le volume de dispersion total ou espace sodium. La valeur de l'espace sodium mesuré est de l'ordre de 28 ml ± 2/100 g rat, valeur comparable à celle généralement citée dans la littérature (21, 32, 42). Il est calculé à partir du rapport de la radioactivité initiale injectée à l'animal sur la radioactivité retrouvée dans 1 ml de plasma, au temps d'équilibre de l'ordre de 30 mn. Sa valeur n'est pas ou très peu modifiée lorsqu'elle est calculée deux heures après l'injection du ^{24}Na.

- Il existe d'autre part, à partir du volume initial, une fuite constante de calcium stable, dont la répartition dans les liquides extracellulaires est déjà équilibrée. De même, il existe une fuite du radiocalcium vers les voies d'excrétion et le squelette.

1 - 4 - Méthode de calcul de l'index d'épuration et du paramètre de capture rapide du calcium.

Le ^{24}Na et le ^{45}Ca sont injectés simultanément par voie intraveineuse et on obtient les deux courbes A (t) et B (t) de diminution de la radioactivité sanguine (Fig. 20).

La fonction A (t) est représentative de l'évolution du volume dans lequel se dispersent les radioéléments. A chaque instant t, correspond un volume V le ^{24}Na subit un processus de dispersion durant 30 minutes chez le rat, temps au bout duquel la courbe devient presque horizontale, du fait que le sodium n'est que très faiblement éliminé par les voies d'excrétion.

La fonction B (t) est représentative à la fois de la fonction de dispersion A (t) et d'une fonction d'épuration E (t), du ^{45}Ca et du Ca stable.

Si la fuite de calcium stable est constante pendant la durée de l'expérience, et si le ^{24}Na est bien représentatif de la dispersion du ^{45}Ca, on peut écrire que :

$$E(t) = \frac{B(t)}{A(t)} = ae^{-\lambda t}$$

quelle que soit la nature de A (t) ou fonction de dispersion.

Pendant les trente premières minutes, l'évolution du rapport des deux courbes E (t), représentatif de l'épuration sanguine, est une fonction qui s'ajuste sur une exponentielle dont le coefficient de pente "λ", représente la fraction du volume de dispersion initial épuré par unité de temps (cm^3/mn).

En effet, au temps d'équilibre, le radiocalcium est uniformément réparti dans la masse de calcium du volume de dispersion final V, et s'il existe une fuite constante, cette fuite s'exprime par l'équation suivante :

$$\frac{d\,B\,(t)}{dt} = -\,K\,B\,(t)$$

Comme il existe une proportionnalité entre le volume final et le volume initial V i, on peut écrire de la même façon :

$$\frac{d\,B\,(t)}{dt} = -\,K'\,B\,(t)$$, K' étant un coefficient tenant compte des rapports de volume.

soit v (t), l'augmentation du volume de dispersion en fonction du temps. Lorsque le radiocalcium se disperse dans le volume v (t), on mesure une concentration b (t), de telle sorte que :

$$B\,(t) = \frac{b\,(t) \times v\,(t)}{V}$$

B (t) étant la concentration du radiocalcium dans le volume final V

b (t) étant la concentration du radiocalcium dans le volume v (t) au temps t

$\frac{v\,(t)}{V}$ représente le taux d'occupation du volume V

d'où $\frac{d\,B\,(t)}{dt} = \frac{1}{V}\,\frac{d\,[b\,(t) \times v\,(t)]}{dt}$

soit $\frac{1}{V}\,\frac{d\,(b\,(t) \times v\,(t))}{dt} = -\,\frac{K}{V}\,[b\,(t) \times v\,(t)]$ ①

Dans le cas du sodium, la variation d'activité dans le volume en expansion, s'exprime par l'équation suivante :

$a\,(t) = \frac{q}{v(t)}$ d'où : $v\,(t) = \frac{q}{a\,(t)}$, q étant la quantité de sodium 24 injectée.

Cette valeur de V (t) portée dans l'équation ① permet d'obtenir :

$$\frac{d}{dt}\left(\frac{b\,(t)}{a\,(t)}\right) = -\,\lambda\,\frac{b\,(t)}{a\,(t)}$$

d'où : $$\frac{b\,(t)}{a\,(t)} = \frac{b_o}{a_o}\,e^{-\lambda t}$$

Figure 21
CALCUL DU VOLUME INITIAL

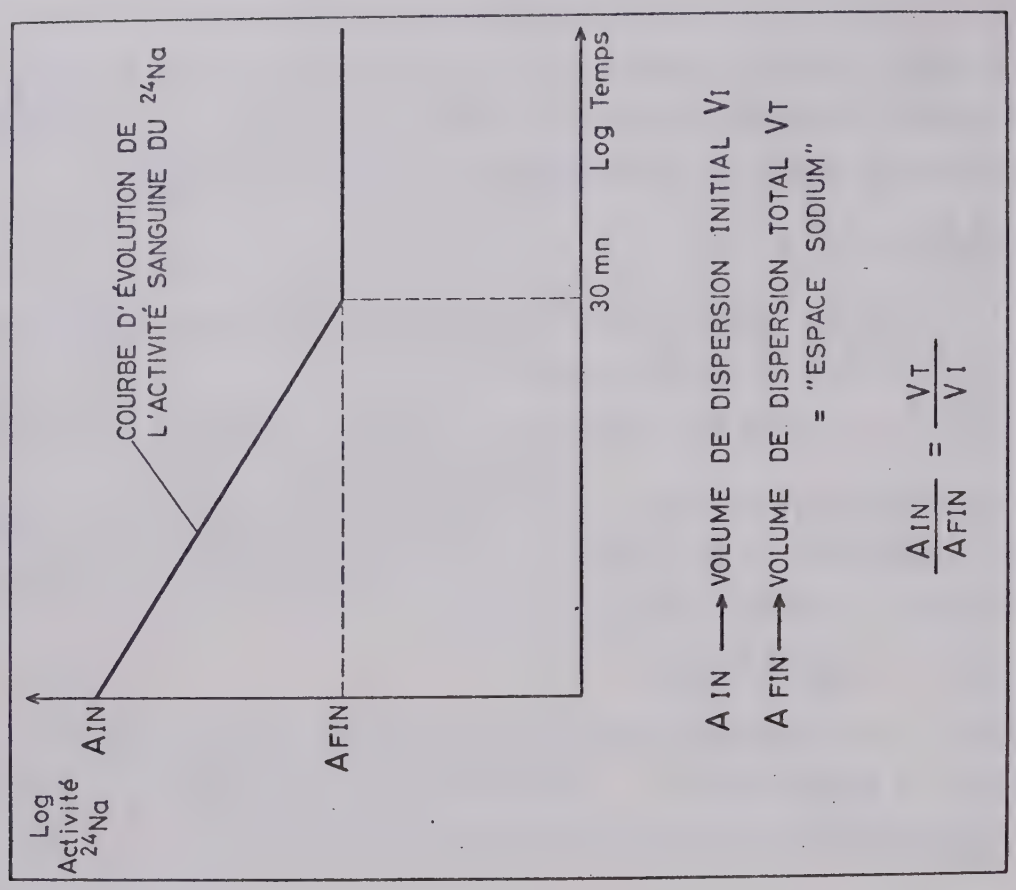
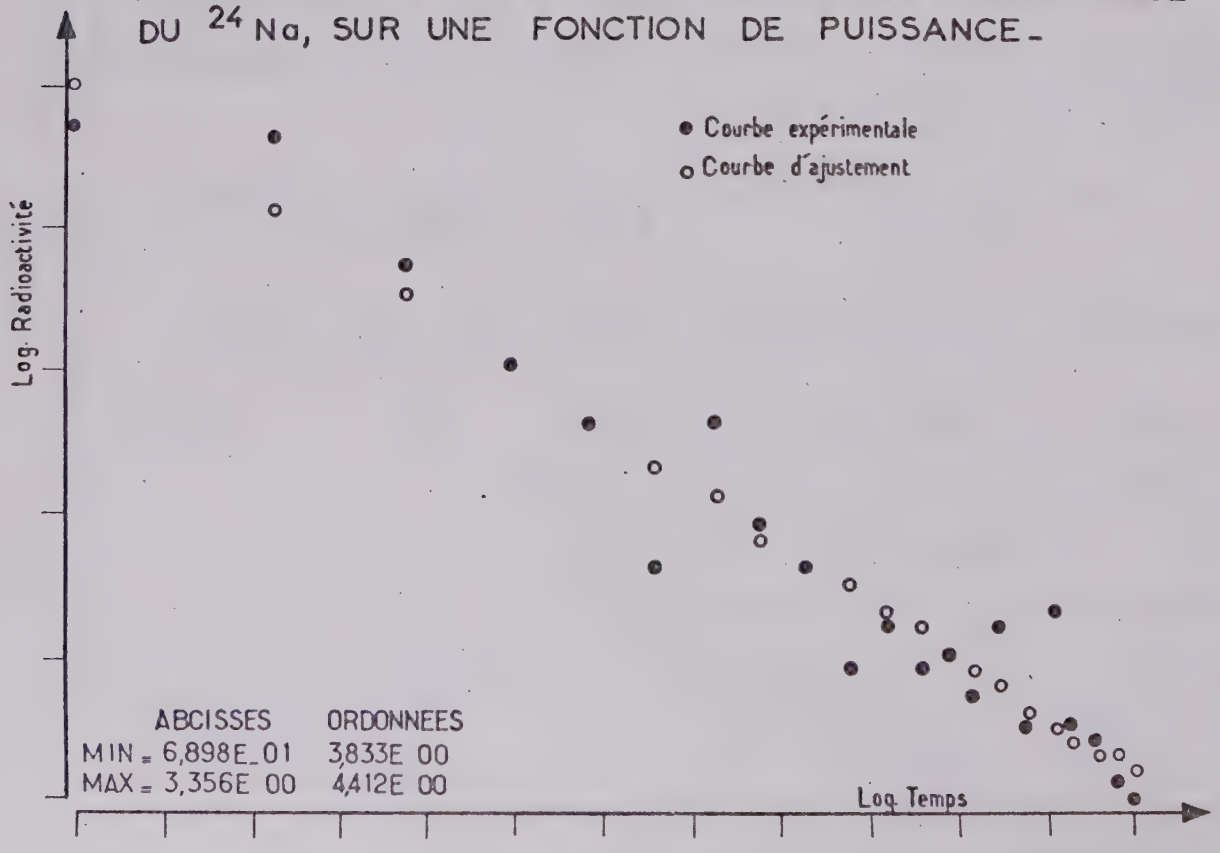


Figure 22
AJUSTEMENT DE LA COURBE SANGUINE DE DECROISSANCE DU ^{24}Na, SUR UNE FONCTION DE PUISSANCE.



Le coefficient "λ", représentatif de la fraction de volume initial épurée par minute, étant connu, l'index d'épuration du calcium devient :

$$I\ (ml/mn) = V\ i\ .\ \lambda$$

Le volume de dispersion initial est calculé à partir de l'espace sodium et de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine du ^{24}Na, ajustée sur une fonction de puissance (Fig. 21 et 22). L'ordonnée à l'origine de la courbe est le temps 1 mn, temps au bout duquel la dispersion du ^{24}Na dans le volume initial est terminée. La valeur de ce volume est de 8,9 ml/100 g de poids corporel, valeur supérieure au volume du plasma sanguin puisque ce dernier est de l'ordre de 4 ml/100 g de poids corporel.

Aussi, pour calculer la masse de calcium épurée par unité de temps, il faudrait pouvoir combiner la calcémie et la concentration en calcium du reste du volume initial de dispersion. En effet, le volume initial de dispersion V i est la somme du volume plasmatique et d'une fraction de volume interstitiel. Cette dernière ne correspond pas à un espace anatomiquement défini, et il est difficile d'en connaître la composition chimique exacte, et en particulier sa concentration massique en calcium. Comme valeur de concentration du calcium dans les liquides interstitiels, il a été proposé de prendre la concentration du calcium ultrafiltrable du plasma sanguin (variant de 55 à 70 % selon les méthodes utilisées). Cependant, cette valeur n'est que théorique,car elle ne tient pas compte des liaisons du calcium, dans les liquides interstitiels, avec des molécules à fort poids moléculaire qui ne traverseraient pas la barrière vasculaire et qui pourraient expliquer la teneur en calcium de certains liquides interstitiels, très proche de celle du calcium total sérique (57).

Dans ce but, RASMUSSEN (118), a mesuré in vivo chez le rat, les concentrations de calcium total, de calcium ultrafiltrable, et de protéines, dans le liquide interstitiel, à l'aide de chambre de diffusion et de dialyse implantées dans la région sous cutanée. La concentration en calcium total mesurée, est alors de 8,80 ml/100 ml, et la fraction de calcium ultrafiltrable est de 71 % du calcium total, tandis que la concentration en protéines correspond à 62 % de la valeur de la protéine sérique.

De plus, si la concentration calcique du liquide interstitiel est plus petite que celle du plasma, alors que les concentrations du sodium dans les deux milieux sont identiques, on devrait mesurer, dans des organes où le calcium n'est pas capté des rapports $^{47}Ca/^{24}Na$ plus petits que celui mesuré dans le sang. Or les rapports de radioactivité $^{47}Ca/^{24}Na$ dans le sang, le foie et le cerveau (Tableau 12) sont identiques, ce qui suggère une identité du rapport des masses de sodium et de calcium tracées.

Etant donnés tous ces résultats, nous avons préféré utiliser la concentration en calcium dans le plasma pour calculer la masse de calcium quittant la masse initiale de calcium, M I :

$$m = M\,I\,.\,\lambda$$

Dans les conditions normales, l'élimination du calcium stable par les voies d'excrétion est faible devant le processus de capture du calcium par le squelette. Dans les conditions pathologiques que nous étudierons ultérieurement, cette élimination est éventuellement et parfois gravement perturbée. Pour connaître le paramètre de capture rapide du calcium par le squelette (qCa os) il est alors nécessaire de mesurer la quantité de calcium éliminée par les voies d'excrétion, pour chaque condition pathologique, puisque :

$$q\ Ca - os = m : (Ca_u + Ca_f)$$

Ca_u = quantité de calcium excrétée par voie urinaire et par unité de temps
Ca_f = quantité de calcium excrétée par voie fécale et par unité de temps.

Au cours des calculs de l'index d'épuration calcique, et des vérifications du choix du ^{24}Na comme élément de référence possible pour la dispersion du radiocalcium, nous serons donc amenés à utiliser :

- les courbes de décroissance de la radioactivité sanguine calcique et sodique, qui ajustées sur des fonctions de puissance distinctes fournissent ainsi des coefficients de pente F.P. ^{45}Ca et F.P.^{24}Na, constituant des valeurs qualitatives des dynamiques de ces deux radioéléments : une dynamique de dispersion pure pour le ^{24}Na, et une dynamique, combinaison d'une dispersion et d'une épuration pour le radiocalcium.

- les courbes de décroissance des rapports $\frac{\text{radiocalcium}}{^{24}Na}$ qui, ajustées sur une fonction exponentielle, fournissent un coefficient λ d'Exp. constituant une valeur quantitative de la dynamique d'épuration du calcium.

Dans un deuxième temps, notre objectif a été le suivant : essayer d'ajuster les mêmes courbes d'évolution de la radioactivité sanguine calcique, obtenue pendant les trente premières minutes, sur différents modèles compartimentaux simples.

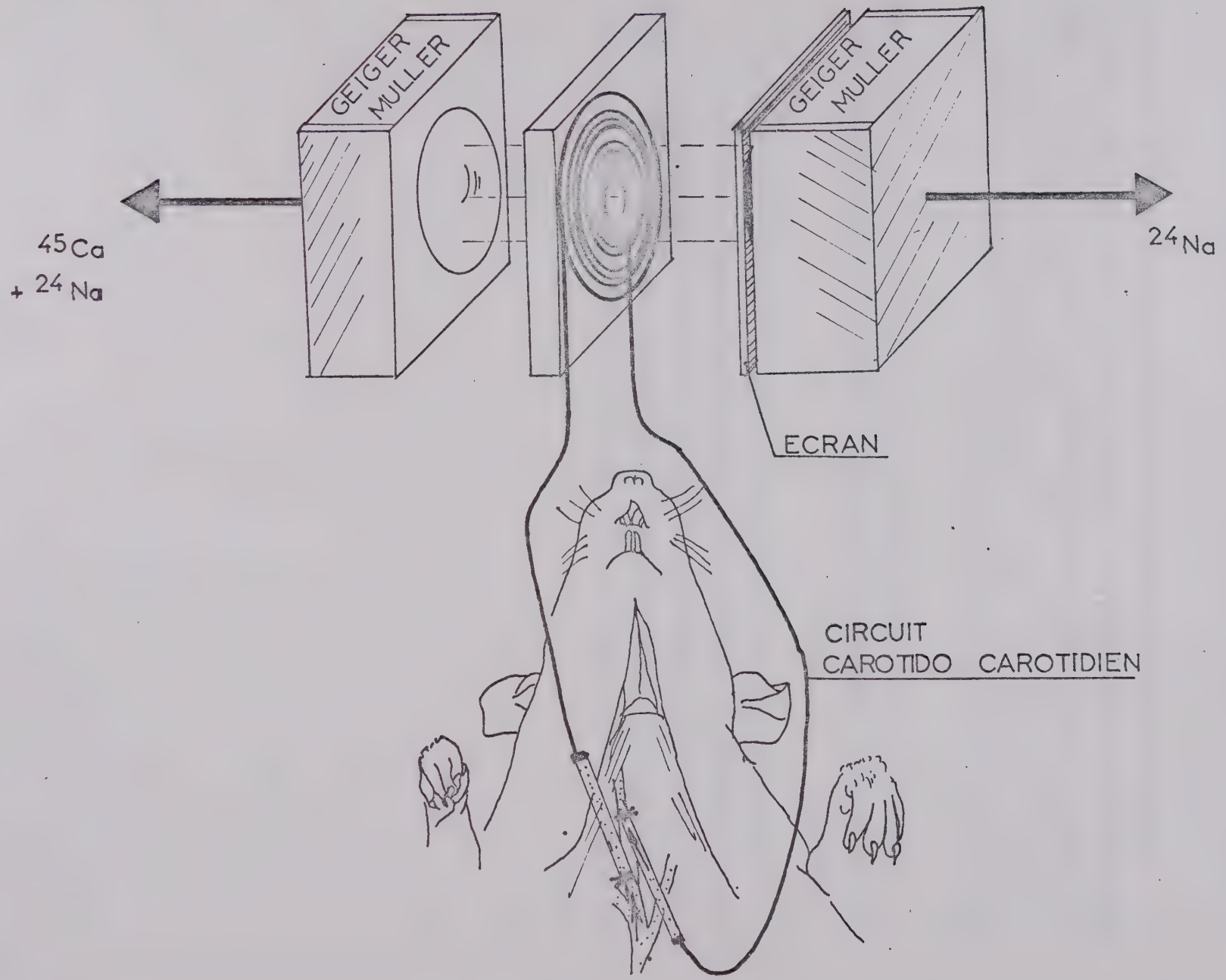
A - II - LA METHODE DE L'ANALYSE COMPARTIMENTALE EN VUE D'UNE COMPARAISON AVEC LA "METHODE A DEUX ISOTOPES"

Les modèles compartimentaux seront étudiés, soit sans aucune imposition des valeurs de coefficients de fuite, soit avec une imposition des valeurs de clearance sanguine calcique précédemment calculées dont le modèle à deux isotopes ($^{24}Na + {}^{45}Ca$), afin de voir s'il existe un modèle compartimental susceptible de donner des résultats identiques ou proches de ceux obtenus par l'intermédiaire du modèle à deux isotopes.

L'analyse compartimentale est réalisée à l'aide de la technique d'ajustement de BAZIN, fondée sur la méthode de MONTE CARLO précédemment décrite (11;27,29).

L'étude des modèles compartimentaux a été effectuée à partir de la "courbe moyenne" d'évolution de la radioactivité sanguine calcique.
En effet, nous démontrerons que la moyenne des coefficients de pente "λ", des courbes d'ajustement sur une fonction donnée, est égale au coefficient de pente "λ" de la courbe moyenne obtenue à partir des dix courbes d'évolution.

Figure 23. Schéma expérimental



B

TECHNIQUE ET MATERIEL EXPERIMENTAUX

B - I - TECHNIQUE D'OBTENTION DES DONNEES SANGUINES

L'injection intraveineuse simultanée en $^{24}NaCl$ et $^{45}CaCl_2$ ou ^{147}Pm - DTPA, est effectuée par la veine fémorale. Deux enregistrements magnétiques continus sont réalisés à l'aide du circuit carotido-carotidien extracorporel précédemment décrit. Les mesures continues et simultanées de la radioactivité sanguine en ^{45}Ca et ^{24}Na, sont effectuées pour des raisons d'ordre technique, à l'aide de deux détecteurs Geiger Muller . . Les énergies des rayonnements β^- de ces deux radioéléments sont de 250 KeV pour le ^{45}Ca et de 1,39 MeV pour le ^{24}Na. Il suffit d'intercaler un écran entre la cellule sanguine et le détecteur Geiger pour le ^{24}Na, de telle sorte que les rayonnements β^- mous du ^{45}Ca soient alors totalement arrêtés (Fig. 23) . Le facteur de correction pour le ^{24}Na, dû à la présence de l'écran, a été préalablement calculé grâce à une injection unique de ^{24}Na. Nous avons vu précédemment, que la faible énergie du rayonnement β^- du ^{45}Ca, imposait une administration intraveineuse de l'ordre de 50 µC- mais dans le cas du ^{24}Na, il suffit de 0,6 µCi pour suivre la cinétique d'évolution sanguine.

Même si l'étude des courbes n'est effectuée que depuis le temps initial jusqu'au temps correspondant à la fin de la dispersion du ^{24}Na dans les liquides extracellulaires (de l'ordre de 30 mn), la durée totale de l'enregistrement est de l'ordre de deux heures. La base de temps de 80 secondes, choisie en fonction des dispositifs techniques de mesure, permet d'obtenir vingt-trois points expérimentaux, correspondant aux trente minutes de mesure. La mise en forme des données s'effectue sur analyseur multicanaux et leur traitement est entièrement réalisé par ordinateur IBM.

B - II - MATERIEL ANIMAL EXPERIMENTAL

Tous les rats utilisés sont des rats de race Sherman, ♂, d'un âge moyen de douze semaines, et d'un poids moyen de 280 grammes.

- 1 DTPA : Pour comparer les cinétiques de dispersion du DTPA-^{147}Pm et du ^{24}Na, trois animaux ont été néphrectomisés. Le circuit carotido-carotidien extracorporel, puis l'injection intraveineuse simultanée de ^{24}Na et DTPA-^{147}Pm sont effectués immédiatement après la néphrectomie totale. La clearance rénale du DTPA a été calculée sur 6 animaux.

- 2 Calcium : Pour comparer les dynamiques de répartition du ^{24}Na et du ^{47}Ca dans divers organes, des séries d'animaux ont été sacrifiés à 5 mn d'intervalle, entre le temps initial d'injection et le temps final 30 mn.Les différents organes furent prélevés, sous forme de prélèvements globaux dans le cas du foie et du cerveau, sous forme de prélèvements partiels dans le cas du muscle, du sang et du squelette.(*) Le fémur a été choisi comme élément représentatif du squelette.

Cette expérience a été effectuée sur 36 animaux normaux et sur 30 animaux soumis à un régime carencé en calcium depuis trois semaines (0,05 % Ca, 3 % P).

Enfin, la clearance du calcium, ainsi que le paramètre de capture rapide du calcium par le squelette ont été calculés sur dix animaux normaux et sur dix animaux ayant reçu 6 mg de calcium stable simultanément avec le ^{45}Ca et le ^{24}Na.

B - III - DOSAGES ET COMPTAGES

Les dosages de calcium dans le sang et l'urine ont été effectués à l'aide d'un spectrophotomètre à absorption atomique PERKIN ELMER 300.

Les quantités de calcium endogène fécal ont été calculées par l'équation

$$\frac{\text{Calcium urine}}{\text{Radioactivité urine } ^{47}\text{Ca}} = \frac{\text{Calcium endogène fécal}}{\text{Radioactivité fécale } ^{47}\text{Ca}}$$

à partir du 2ème jour, suivant l'injection intramusculaire de $^{47}CaCl_2$

Les comptages de ^{47}Ca et ^{24}Na sont réalisés à l'aide d'un GAMMATIC.

(*) Les prélèvements musculaires sont de l'ordre de 2 grammes et les prélèvements sanguins de l'ordre de 2 ml. Nous avons considéré que la valeur du volume total sanguin correspondait approximativement à 8 % du poids du corps, et celle des masses musculaires à 40 %.

Figure 24

AJUSTEMENT DU RAPPORT DES COURBES SANGUINES DE DECROISSANCE $^{147}Pm/^{24}Na$, SUR UNE FONCTION EXPONENTIELLE -

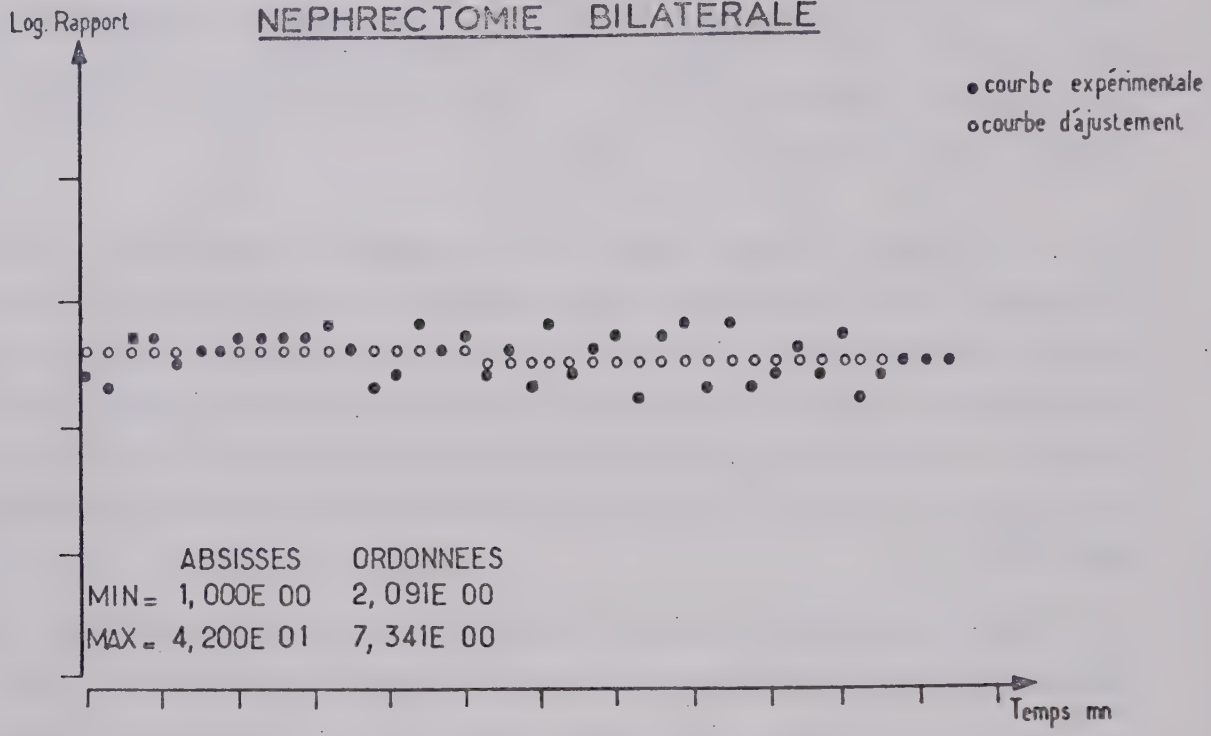
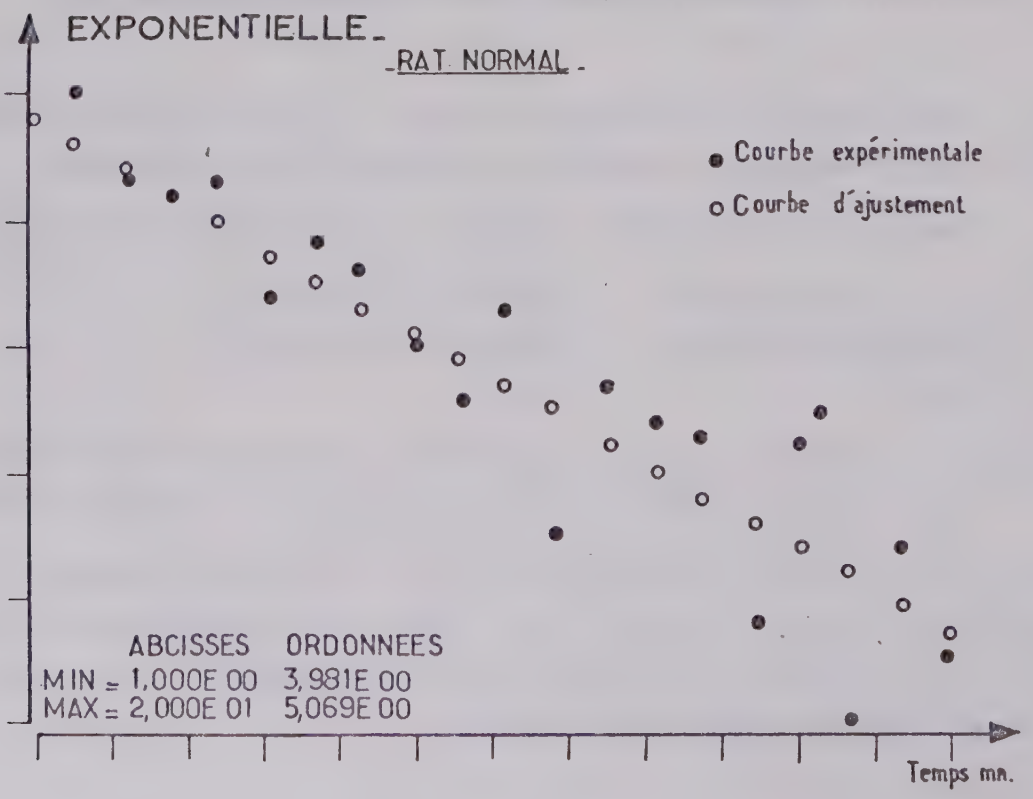


Figure 25

AJUSTEMENT DU RAPPORT DES COURBES SANGUINES DE DECROISSANCE $^{147}Pm/^{24}Na$, SUR UNE FONCTION EXPONENTIELLE -



C

RESULTATS CHEZ L'ANIMAL NORMAL et COMMENTAIRES

C - I - METHODE A DEUX ISOTOPES

C - I.1 - *Méthode à deux Isotopes.*

1.1 - Vérification indirecte de l'identité des cinétiques de dispersion du ^{24}Na et du ^{45}Ca : comparaison des cinétiques sanguines du ^{24}Na et du ^{137}Pm.

Après néphrectomie totale, les deux courbes représentatives de l'évolution simultanée des cinétiques sanguines du DTPA-^{147}Pm et du ^{24}Na se superposent et le rapport E (t) de ces deux courbes, ajusté sur une fonction exponentielle, donne une pente horizontale (Fig. 24). Ce résultat est identique chez les trois rats néphrectomisés.

Ces résultats obtenus après néphrectomie bilatérale, suggèrent qu'un cation libre dans le secteur extracellulaire tel que le ^{24}Na, et un complexe tel que le DTPA-^{147}Pm, se dispersent d'une façon comparable après leur injection intraveineuse. Dès lors, il devient hautement probable que le ^{24}Na puisse représenter un traceur valable de la dispersion du DTPA. Ce résultat devient un argument indirect en faveur de la validité du ^{24}Na pour la mesure de la dispersion du ^{45}Ca, puisque le calcium n'est que très faiblement lié aux protéines sériques, et devrait se comporter comme un cation libre dans le secteur extracellulaire.

De plus, chez le rat normal, la fraction λ du volume initial de dispersion épurée par unité de temps du DTPA-^{147}Pm est calculée (Fig. 25) : sa valeur moyenne λ = 3,2 %/mn $\pm$ 0,1 %(d.s.m.)

Le volume de dispersion initial moyen étant de 29 ml $\pm$ 1 ml, la valeur moyenne de l'index d'épuration rénale du DTPA devient : Cl (DTPA) = 0,92 ml/mn . Cette valeur de la clearance rénale du DTPA-^{147}Pm, ^{24}Na, est du même ordre de grandeur que la valeur de la filtration glomérulaire d'autres substances telles que l'inuline, obtenue chez le rat, à l'aide de méthodes traditionnelles (15, 17). Ce résultat est un argument en faveur de la validité de la méthode utilisée.

TABLEAU 12

ETUDE DE L'EVOLUTION SIMULTANEE DE LA RADIOACTIVITE SANGUINE, HEPATIQUE ET CEREBRALE DU ^{47}Ca et DU ^{24}Na, PENDANT LES TRENTE PREMIERES MINUTES APRES LEUR INJECTION.
(en % DE LA RADIOACTIVITE INITIALE INJECTEE)

TEMPS DU SACRIFICE (mn)	RATS	SANG TOTAL / FOIE TOTAL ^{47}Ca	SANG TOTAL / FOIE TOTAL ^{24}Na	SANG/FOIE ^{47}Ca / SANG/FOIE ^{24}Na	SANG TOTAL / CERVEAU TOT. ^{47}Ca	SANG TOTAL / CERVEAU TOTAL ^{24}Na	SANG/CERVEAU ^{47}Ca / SANG/CERVEAU ^{24}Na
5	1	11,2	10,0	1,12	214	205	1,04
	3	11,5	10,9	1,06	179	189	0,95
10	4	9,1	10,0	0,91	165	158	1,05
	5	10,0	10,0	1,00	120	115	1,04
	6	9,53	9,78	0,97	158	150	1,05
15	7	10,0	11,3	0,90	114	118	0,96
	8	9,3	9,6	0,97	100	100	1,00
	9	11,3	11,5	0,98	120	117	1,02
23	10	10,9	11,2	0,97	100	104	0,96
	11	8,5	9,3	0,91	92	85	1,08
	12	11,2	11,8	0,95	105	104	1,00
30	13	9,7	10,0	0,97	88	80	1,10
	14	9,5	10,0	0,95	103	100	1,03
	15	11,5	11,5	1,0	94	94	1,02
				M = 0,98 ± 0,02			M = 1,02 ± 0,02

1.2 - Vérifications directes de la validité du choix du ^{24}Na comme élément représentatif de la dispersion du ^{47}Ca : étude de l'évolution simultanée des cinétiques sanguines, hépatiques, cérébrales, musculaires et osseuses en ^{47}Ca et ^{24}Na.

a) Cinétiques au niveau du sang, du foie et du cerveau

L'évolution simultanée de la répartition du ^{24}Na et du ^{47}Ca dans le sang, le foie et le cerveau est résumée dans le Tableau 12.
Les valeurs des rapports $\frac{\text{SANG/FOIE } ^{47}Ca}{\text{SANG/FOIE } ^{24}Na}$ et $\frac{\text{SANG/CERVEAU } ^{47}Ca}{\text{SANG/CERVEAU } ^{24}Na}$ sont très proches de 1, quel que soit le moment de la mesure.

Ce résultat permet de conclure à la similitude des cinétiques de dispersion de ces deux radioéléments, dans ces organes, pendant les trente premières minutes suivant leur injection dans le sang circulant. Le fait que pendant ces temps très courts, les rapports $\frac{\text{SANG}}{\text{FOIE}}$ du ^{47}Ca et du ^{24}Na sont relativement stables, tandis que les rapports $\frac{\text{SANG}}{\text{CERVEAU}}$ du ^{47}Ca et du ^{24}Na diminuent parallèlement et progressivement, jusqu'à devenir deux fois plus faibles, renforce cette conclusion. Il est probable qu'au niveau du cerveau, intervienne un facteur commun, sans doute la dispersion dans le liquide céphalo-rachidien.

b) Cinétiques au niveau du sang et des muscles.

Les résultats concernant l'évolution simultanée du ^{47}Ca et du ^{24}Na dans le sang et les muscles chez l'animal normal, sont exposés dans le Tableau 13.
Les rapports $\frac{\text{SANG}}{\text{MUSCLE}}\ ^{47}Ca$ et $\frac{\text{SANG}}{\text{MUSCLE}}\ ^{24}Na$ diminuent parallèlement jusqu'à la trentième minute. Les rapports $\frac{\text{SANG/MUSCLE } ^{47}Ca}{\text{SANG/MUSCLE } ^{24}Na}$ sont inférieurs à 1.

Au niveau du muscle, ces résultats permettent d'exclure, pendant ces temps très courts, un processus de capture musculaire vis-à-vis du ^{47}Ca ou du ^{24}Na ; cependant le fait que les rapports $\frac{\text{SANG/MUSCLE}^{47}Ca}{\text{SANG/MUSCLE}^{24}Na}$ soient plus petits que 1, laisse supposer que l'espace occupé par le calcium dans le muscle est un peu plus grand que l'espace sodium musculaire. Etant donné que le muscle représente moins de 15 % de la répartition du radiocalcium, pendant ces temps très courts, la précision des mesures ne permet pas de mettre en évidence l'influence du facteur musculaire. Ce résultat concorde avec celui obtenu par STOCLET JC.(107,108).

TABLEAU 13

ETUDE DE L'EVOLUTION SIMULTANEE DE LA RADIOACTIVITE SANGUINE ET MUSCULAIRE DU ^{47}Ca ET DU ^{24}Na PENDANT LES TRENTE PREMIERES MINUTES APRES LEUR INJECTION.

TEMPS DU SACRIFICE (mn)	RATS n°	$\frac{\text{SANG}}{\text{MUSCLE}}\ ^{47}Ca$	$\frac{\text{SANG}}{\text{MUSCLE}}\ ^{24}Na$	$\frac{\text{SANG/MUSCLE } ^{47}Ca}{\text{SANG/MUSCLE } ^{24}Na}$
5	1	0,81	1,36	
	2	1,20	1,30	$\bar{M}$ = 0,70
	3	0,97	1,22	
10	4	0,99	1,13	
	5	0,91	0,97	$\bar{M}$ = 0,87
	6	0,90	1,11	
15	7	0,67	0,93	
	8	0,78	1,14	$\bar{M}$ = 0,79
	9	1,04	1,09	
30	13	0,90	1,00	
	14	0,80	0,90	$\bar{M}$ = 0,80
	15	0,71	1,12	

TABLEAU 14

ETUDE DE L'EVOLUTION SIMULTANEE DE LA RADIOACTIVITE SANGUINE ET OSSEUSE DU ^{47}Ca ET DU ^{24}Na, PENDANT LES TRENTE PREMIERES MINUTES APRES LEUR INJECTION, CHEZ DES RATS NORMAUX.

EMPS DU ACRIFICE (mn)	SANG		SQUELETTE		RAPPORTS	
	% ^{47}Ca	% ^{24}Na	% ^{47}Ca	% ^{24}Na	SANG $^{47}Ca/^{24}Na$	SQUELETTE $^{24}Na/^{47}Ca$
5	22,0 ± 2,0	29,0 ± 2,0	32,0 ± 0,5	7,7 ± 0,1	0,75	0,25
10	14,6 ± 0,5	22,0 ± 0,8	40,0 ± 0,5	8,9 ± 0,1	0,66	0,22
15	12,8 ± 0,1	19,7 ± 0,1	44,0 ± 0,5	9,3 ± 0,2	0,64	0,21
20	10,8 ± 0,1	19,0 ± 0,2	51,0 ± 0,4	10,2 ± 0,1	0,54	0,20
25	9,2 ± 0,1	18,0 ± 0,2	53,0 ± 0,4	10,5 ± 0,1	0,51	0,19
30	8,5 ± 0,2	17,8 ± 0,2	56,0 ± 0,9	9,8 ± 0,1	0,47	0,17

* Chaque chiffre est la moyenne de 6 animaux ± e.s.m.

TABLEAU 15

ETUDE DE L'EVOLUTION SIMULTANEE DE LA RADIOACTIVITE SANGUINE ET OSSEUSE DU ^{47}Ca et du ^{24}Na, PENDANT LES TRENTE PREMIERES MINUTES APRES LEUR INJECTION, CHEZ DES RATS CARENCES EN CALCIUM.

Temps DU SACRIFICE (mn)	SANG		SQUELETTE		RAPPORTS	
	% ^{47}Ca	% ^{24}Na	% ^{47}Ca	% ^{24}Na	SANG $^{47}Ca/24Na$	SQUELETTE $^{24}Na/^{47}Ca$
5	23,0 ± 1,0	29,0 ± 0,3	30,0 ± 1,0	9,4 ± 0,2	0,79	0,31
10	18,1 ± 0,8	26,0 ± 0,4	37,2 ± 1,0	9,6 ± 0,1	0,70	0,25
15	14,9 ± 0,5	23,3 ± 0,9	41,0 ± 1,2	9,7 ± 0,2	0,63	0,23
23	13,0 ± 0,6	20,6 ± 0,5	43,1 ± 1,3	9,8 ± 0,1	0,63	0,22
30	11,1 ± 0,2	19,8 ± 0,1	48,2 ± 0,9	9,8 ± 0,1	0,56	0,20

* Chaque chiffre est la moyenne de 6 animaux ± e.s.m.

EVOLUTION SIMULTANEE DES RAPPORTS

Fig 26 RAT NORMAL

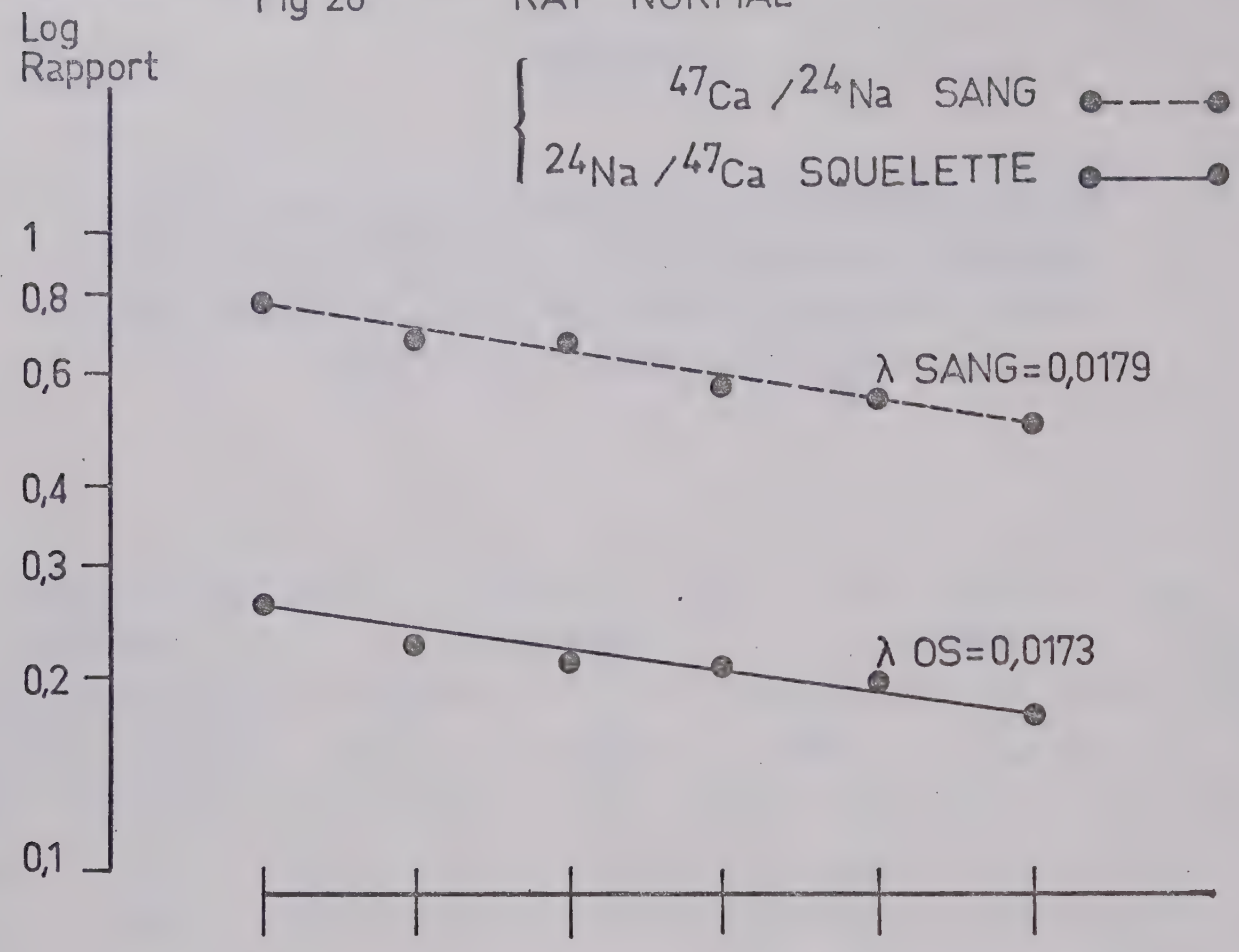
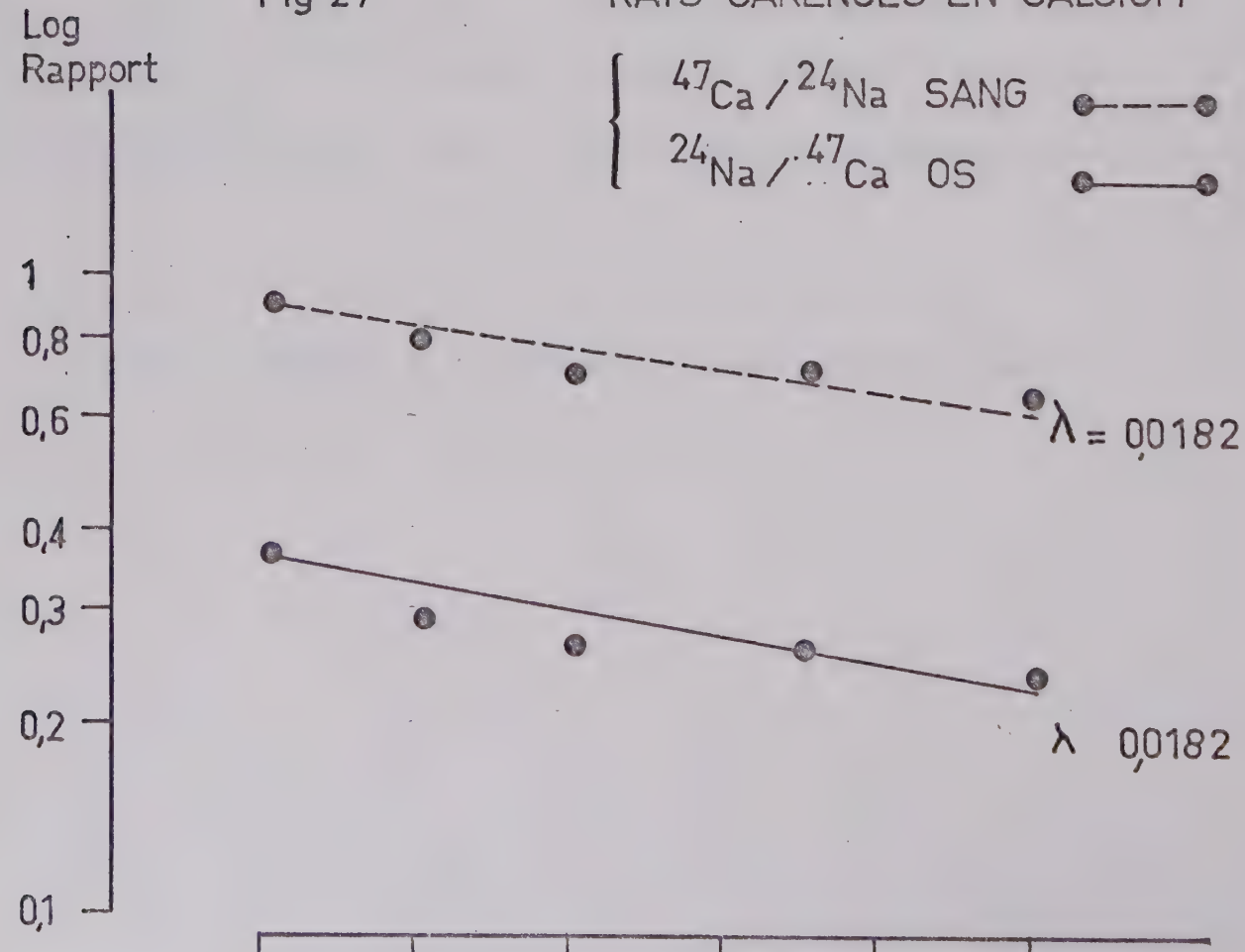


Fig 27 RATS CARENCES EN CALCIUM



c) *Cinétiques au niveau du sang et du squelette.*

Les résultats concernant l'évolution simultanée des rapports $\frac{^{47}Ca}{^{24}Na}$ SANG, et $\frac{^{24}Na}{^{47}Ca}$ OS sont exposés dans le tableau 14.

L'évolution du rapport des courbes $^{47}Ca/^{24}Na$ SANG, s'ajuste sur une exponentielle de la forme $y = a\, e^{-\lambda_1 t}$.

L'inverse du rapport des courbes $1/\frac{^{47}Ca}{^{24}Na}$ OS s'ajuste sur une exponentielle de la forme $z = 1/b\, e^{-\lambda_2 t}$

Dès lors si $y.z = \frac{a}{b} = Cte$, nous vérifions chez le rat normal, que le coefficient "λ" de pente de l'exponentielle sur laquelle est ajustée la courbe d'évolution de rapport $^{45}Ca/^{24}Na$ sanguin, est bien représentatif de la seule capture du calcium par le squelette, indépendamment du processus de dispersion du calcium dans les fluides osseux.

Or, nous constatons que : (Fig. 26)

$$y.z = a/b = Cte, \text{ puisque } \frac{0,80e^{-0,0179\ t}}{0,28e^{-0,0173\ t}} = Cte$$

Chez l'animal carencé en calcium, le rapport obtenu est également une constante, puisque les coefficients de pente des deux fonctions exponentielles sont tous les deux comparables (Fig. 27, Tableau 15).

Les résultats obtenus par l'étude de l'évolution simultanée du rapport $\frac{^{47}Ca}{^{24}Na}$ SANG et du rapport inverse $\frac{^{24}Na}{^{47}Ca}$ SQUELETTE confirment la validité du choix du ^{24}Na en tant qu'élément représentatif de la dispersion du ^{47}Ca, ainsi que la validité du principe de la méthode utilisée. En effet, dans des conditions normales et une condition pathologique, la carence en calcium, pour lesquelles les processus d'épuration du radiocalcium par les voies d'excrétion sont faibles devant les processus de dispersion dans les liquides extracellulaires, et devant les processus d'épuration par le squelette, l'étude de l'évolution du rapport $\frac{^{24}Na}{^{47}Ca}$ OS, permet :

1° de dissocier le processus de dispersion du calcium dans les fluides osseux, du processus de capture vraie.

2° de calculer directement un coefficient représentatif de la clearance osseuse du calcium.

TABLEAU 16

COMPARAISON DES COEFFICIENTS DE PENTE " λ "

(des fonctions de puissance (F.P.))
( ) de 0 à 30 Mn
(des fonctions exponentielles (E.X.P.)

N°Rats	"λ" F.P ^{45}Ca	"λ" F.P. ^{24}Na	"λ" E.X.P	"λ" EXP Fonction combinée	"λ" F.P Fonction combinée
	I/ Cas où l'assimilation de la courbe du ^{24}Na à une fonction de puissance est valable				
1	0,45	0,30	0,022	0,020	0,28
2	0,45	0,29	0,021	0,019	0,28
3	0,45	0,24	0,027	0,027	0,22
4	0,43	0,27	0,015	0,015	0,29
	II/ Cas où l'assimilation de la courbe du ^{24}Na à une fonction de puissance n'est pas parfaite				
5	0,46	0,27	0,027	0,001	0,44

3° de vérifier que la valeur de ce coefficient est comparable à celle obtenue à partir de l'étude de l'évolution simultanée du rapport $\frac{^{47}Ca}{^{24}Na}$ dans le sang.

1.3 - Vérification mathématique de la validité du choix du ^{24}Na, en tant qu'élément représentatif de la dispersion du radiocalcium.

Les résultats sont exposés dans le Tableau 16. Comme nous l'avions annoncé précédemment, cette vérification étudie l'ajustement de la courbe d'évolution de la radioactivité sanguine calcique, pendant les trente premières minutes, sur une fonction combinée de la forme:

$$y = A_1 e^{-\lambda_1 (t - 1)} \cdot t^{\lambda_2}$$

. d'une fonction exponentielle représentative de la fonction d'épuration (λ_1)

. d'une fonction de puissance, représentative de la fonction de dispersion (λ_2).

Nous avons sélectionné des animaux pour lesquels la précision des mesures expérimentales permettait un ajustement parfait de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine sodique, sur une fonction de puissance.Dans ce cas, à la précision de nos mesures, nous constatons que la vitesse de dispersion du ^{45}Ca calculée d'après une fonction combinée, est comparable à la vitesse de dispersion du ^{24}Na, et que le coefficient de pente de l'exponentielle recalculé d'après la même fonction combinée, est comparable à celui calculé d'après le rapport des courbes de ^{45}Ca et de ^{24}Na. Lorsque la courbe sodique sanguine ne s'ajuste pas parfaitement sur une fonction de puissance, les coefficients de pente ne sont plus comparables, et par conséquent, il n'est plus possible d'utiliser la fonction combinée précédente, pour en extraire la fonction exponentielle représentative de l'épuration calcique ; cependant, puisque la méthode est suffisamment générale et n'est pas tributaire du type de la fonction de dispersion, il reste hautement probable que la fonction d'épuration soit une fonction exponentielle.

L'ensemble de ces résultats semble donc confirmer que le ^{24}Na, à la précision de nos mesures, puisse être un élément de référence valable de la dispersion du radiocalcium introduit simultanément dans le sang circulant.

D'autre part, le ^{24}Na, comme nous l'avons vu dans le principe de la "méthode à deux isotopes", est utilisé pour calculer le volume initial de dispersion, à partir de "l'espace Na" et de la courbe de décroissance

TABLEAU 1Z

COMPARAISON DES VALEURS DE QUELQUES PARAMETRES PHYSIOLOGIQUES CHEZ L HOMME LE LAPIN LE RAT (*)

	HOMME	LAPIN	RAT
H_2O TOTALE DU CORPS (ml/kg)	500	660	680
VOLUME DES LIQUIDES EXTRA-CELLULAIRES (ml/kg)	220	200 - 285	270 - 300
VOLUME PLASMATIQUE (ml/kg)	45	38	45
DEBIT CARDIAQUE (ml/mn)	4000	400	50
INDEX CARDIAQUE ($l/m^2/mn$)	2,3	1,7	1,6

(*) HANDBOOK BIOLOGICAL DATA _ SPECTOR ED: 1956

sanguine du ^{24}Na, sur une fonction de puissance. Chez le rat, cette courbe subit une décroissance extrêmement rapide de 1 mn à 6 mn environ, un peu moins rapide à partir de 6 mn et de moins en moins rapide au fur et à mesure que nous nous rapprochons du moment où la courbe atteint le plateau d'équilibre, c'est-à-dire vers 30 mn. Un tel type de courbe n'est pas spécifique au rat, et a également été obtenu chez d'autres espèces. Certains auteurs l'ajustent sur une somme de deux ou trois exponentielles (23,51). D'autres (47) ont étudié la cinétique précoce du ^{24}Na jusqu'à l'équilibre, chez l'homme normal et pathologique (6 heures) ; ils ont montré qu'une méthode de régression non linéaire conduisait à une solution triexponentielle suggérant une répartition tricompartimentale ; ils ont également montré que la méthode de triage au hasard de Monte-Carlo vérifiait l'ajustement de la courbe expérimentale sur un modèle triexponentiel, mais que cet ajustement n'avait aucune signification véritable, en raison du caractère aléatoire de la valeur des coefficients ; ils ont enfin vérifié que l'analyse factorielle confirmait le rejet d'une possibilité d'interprétation de la décroissance plasmatique du ^{24}Na selon la théorie des compartiments, lorsque les prélèvements sont effectués depuis l'administration du ^{24}Na jusqu'à son équilibre.

Par contre, lorsque les prélèvements sont effectués pendant un temps très précoce après l'administration du ^{24}Na (28, 101), il a été démontré qu'une seule fonction exponentielle représentative d'un modèle bicompartimental fermé, était suffisante. Etant donnée la durée de nos mesures, il était difficile de pratiquer ce dernier type d'ajustement (Fig. 28), et en raison des résultats obtenus par les auteurs précédents, nous avons préféré ajuster la courbe sur une fonction de puissance, celle-ci pouvant mieux rendre compte d'un processus de dispersion dans un système physiologique complexe. De plus, le volume de dispersion initial, calculé à partir de " l'espace Na " et de la courbe de dispersion du ^{24}Na ajustée sur une fonction de puissance, donne une valeur comparable à celle obtenue par STOCLET J.C. (109).

La valeur de l'espace Na, calculée aux environs de la trentième minute, chez le rat, est également proche de la valeur des espaces extracellulaires, généralement citée dans la littérature, et comparable à la valeur "espace Na" obtenue par STOCLET J.C. ou F. MOREL (86, 107) chez le rat. Le temps d'équilibre de 30 mn que nous obtenons est également comparable à celui donné dans la littérature (101, 107). A ce sujet, il est intéressant de noter que la durée d'atteinte de l'équilibre semble varier avec l'espèce. Ceci pose un problème et demande une explication. Celle-ci ne peut être trouvée dans les variations des valeurs et volumes extracellulaires, de volume plasmatique et de débit cardiaque donnés dans la littérature (Tableau 17) . En effet, ces

Figure 28
ESSAI D'AJUSTEMENT DE LA COURBE DE DECROISSANCE DE LA RADIOACTIVITE SANGUINE DU ^{24}Na, SUR UNE FONCTION EXPONENTIELLE.
(VALEUR DE LA RADIOACTIVITE SANGUINE AU TEMPS D'EQUILIBRE = 280)

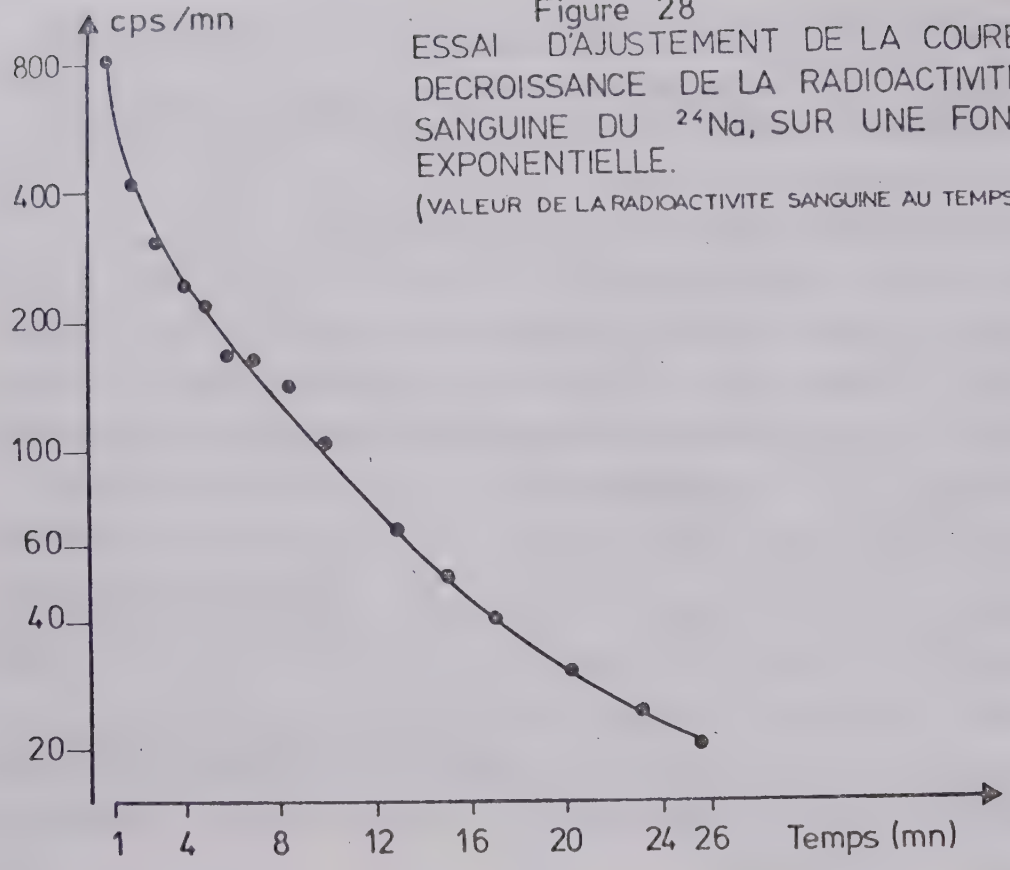
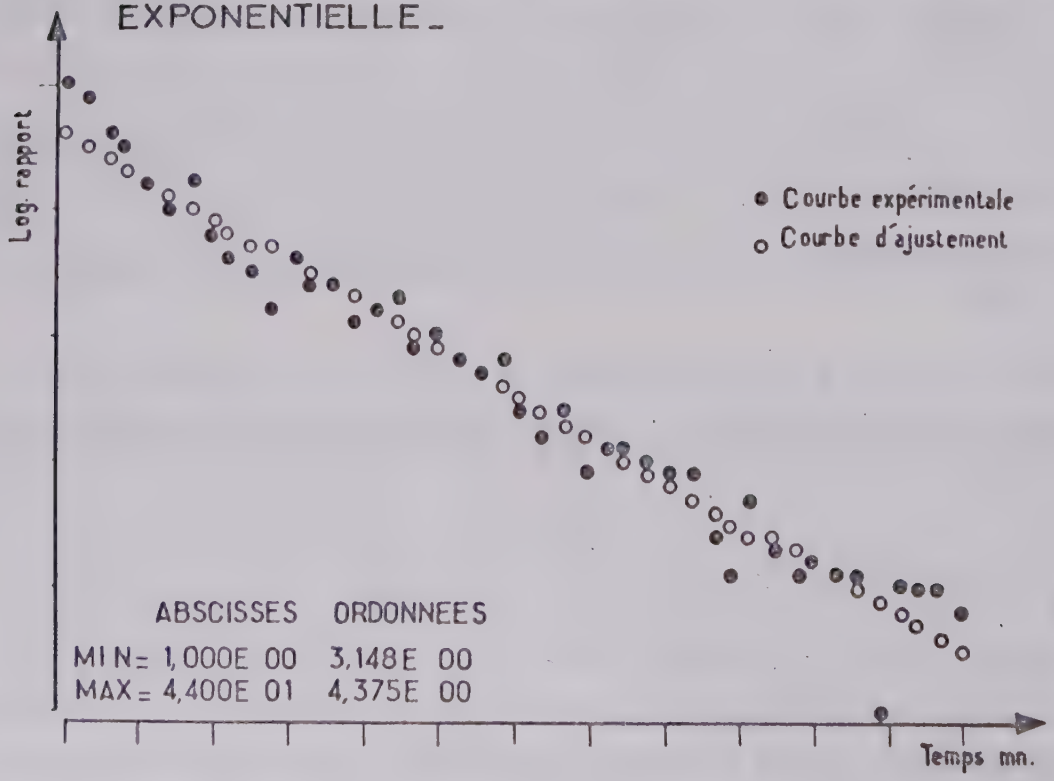


Figure 29
AJUSTEMENT DU RAPPORT DES COURBES SANGUINES DE DECROISSANCE $^{45}Ca/^{24}Na$ SUR UNE FONCTION EXPONENTIELLE.



paramètres rapportés à l'unité de poids ou de surface, varient peu ou pas d'une espèce à l'autre. Partant, l'augmentation du temps d'équilibre avec celle de la taille devient difficile à comprendre, à moins qu'il n'existe un facteur lié à la taille de l'espèce, expliquant les différences des dynamiques de dispersion. L'explication réside probablement dans la constance de la taille du diamètre des capillaires sanguins, quelle que soit l'espèce (57), entraînant une longueur relative de ces capillaires, liée à la taille de l'espèce.

Quelle que soit l'explication donnée à ce problème, l'étude de l'évolution simultanée des courbes de décroissance sanguine du ^{24}Na et du ^{45}Ca, nous a permis, chez le rat, de calculer la clearance calcique et un paramètre de capture rapide du calcium par le squelette

1.4 - Calcul de la clearance calcique et d'un paramètre de capture rapide du calcium par le squelette.

La moyenne du coefficient de pente de la fonction exponentielle, représentatif de la fraction du volume initial de dispersion, épuré de son calcium par minute est la suivante chez le rat normal :

$$\lambda = 0{,}0245 \pm 0{,}0013 \text{ (e.s.m.)}$$

(nombre animaux : 10)

Un exemple d'ajustement de la courbe d'évolution du rapport $^{45}Ca/^{24}Na$ sur une fonction exponentielle, est montré sur la Fig. 29

Le volume initial de dispersion, moyen, étant de 28 cm3, la clearance du calcium devient :

$$Cl \text{ (ml/mn)} = 0{,}67 \pm 0{,}04$$

La mesure du calcium permet de calculer ensuite la quantité moyenne de calcium quittant le volume initial par unité de temps.

$$m \text{ (µg/mn)} = 64 \pm 4$$

Ce résultat est obtenu à partir d'une analyse des courbes sanguines, pendant trente minutes. Ces courbes ont été effectuées à différents moments au cours de la journée, sans que cela entraîne une variation appréciable de la clearance. Dès lors, si la calcémie est constante, et si la valeur de la clearance est également une constante chez l'animal normal, dans les conditions expérimentales utilisées, en particulier chez le rat à jeun, la quantité moyenne de calcium quittant le volume initial par jour :

$$m\ (mg/j) = 92 \mp 5$$

Le problème se pose alors de savoir si le passage dans le sang d'une certaine quantité de calcium stable, qu'elle soit apportée par voie orale ou injectée par voie intraveineuse, peut modifier la clearance. Pour étudier cette influence, le calcium stable est simultanément injecté dans le sang circulant avec le ^{45}Ca et le ^{24}Na, et la clearance est recalculée.Les résultats montrent qu'aucune modification de la valeur de la clearance n'est constatée, pour des valeurs de 6 mg de calcium stable injectés, puisque :

$\lambda = 0{,}0245 \mp 0{,}0013$ (e.s.m.)

moyenne obtenue sur 10 rats, n'ayant reçu du calcium stable qu'à l'état de traces.

$\lambda = 0{,}0235 \mp 0{,}0020$ (e.s.m.)

moyenne obtenue sur 10 rats, ayant reçu 6 mg de calcium stable

Par contre, la calcémie monte brutalement (la calcémie est de 180 γ/ml au bout de 15mn), puis rediminue pour revenir au bout d'une heure 1/2 à une valeur normale. De même, lorsque le calcium stable est administré en grande quantité par voie œsophagienne (100 mg $CaCl_2$ en solution sursaturée chez l'animal à jeun) et que la clearance est calculée au moment de la montée de la calcémie (dès un quart d'heure après l'injection), la valeur de la clearance calcique n'est pas modifiée.

Chez l'animal normal, en définitive, la clearance ne semble pas modifiée par une variation rapide de la calcémie, provoquée par une simple injection intraveineuse de calcium stable, ou par une administration intraœsophagienne . Par contre, la masse de calcium quittant le volume de dispersion initial, pendant l'intervalle de temps nécessaire à la reprise d'une calcémie normale, est augmentée, ainsi que la masse de calcium rapidement captée par le squelette. Ce résultat semble logique, puisqu'en toute rigueur, chez l'animal normal, la clearance calcique ne devrait surtout dépendre que du débit circulatoire et du coefficient d'épuration osseuse, les excrétions demeurant faibles devant l'importance du processus de capture osseuse.

Une fois connue la quantité de calcium quittant chaque jour le volume initial de dispersion, la quantité de calcium rapidement captée par le

squelette ($^{q}ca\text{-}os$) peut être calculée puisque :

$$\underset{(mg/j)}{^{q}ca - os} = \underset{(mg/j)}{m} - (\underset{(mg/j)}{^{q}ca_{F}} + {}^{q}ca_{u})$$

$^{q}ca - F$ = calcium endogène fécal journalier ≈ 11,2 mg/j

$^{q}ca - u$ = calcium urinaire journalier ≈ 0,5 mg/j

La valeur du paramètre de capture rapide du calcium par le squelette devient ainsi, chez le rat normal, de 300 grammes.

$$^{q}ca - os = 80,3 \text{ mg/j} \pm 7,0$$

La signification physiologique de ce paramètre sera mieux définie lors de son étude dans diverses conditions pathologiques, ultérieurement.

En définitive, l'étude de l'évolution simultanée de la radioactivité sanguine pendant les trente premières minutes suivant l'injection intraveineuse des traceurs ^{45}Ca et ^{24}Na, permet de dissocier deux comportements différents du calcium stable,

-1/ une quantité de calcium stable introduite à un instant donné dans le sang en disparait selon une fonction complexe.

-2/ la même quantité de calcium stable déjà présente dans le sang et les espaces de dispersion en disparaîtra selon une fonction exponentielle.

Dans le premier cas, pour connaître la cinétique d'évolution d'une quantité de calcium stable introduite à un moment donné, on lui ajoute du Ca^{45} qui aura un comportement identique. L'évolution de la radioactivité sanguine est alors le reflet de la combinaison de deux phénomènes : l'expansion du volume initial de dispersion, et la fuite constante à partir de ce volume initial. Un tel mécanisme ne peut être représenté que par une fonction complexe.

Dans le deuxième cas le calcium stable déjà présent dans le sang s'y trouve en chaque point à une concentration qui est en équilibre avec celle de

l'ensemble du volume de dispersion. Une fuite constante sur cet ensemble à l'équilibre permet d'assimiler le phénomène à une fonction exponentielle. Le ^{45}Ca ne serait un bon traceur de ce phénomène que s'il était réparti de façon uniforme dans l'ensemble du volume de dispersion. Malheureusement, l'uniformité de répartition n'est réalisée qu'au bout d'un certain temps, suffisant pour que le processus de retour du traceur dans le sang à partir de l'os puisse empêcher l'obtention d'une fonction exponentielle.

Or, c'est le comportement du calcium stable déjà présent dans le sang que l'on cherche à mesurer, puisque celui-là seul est représentatif des échanges avec le squelette. La "méthode à deux isotopes", utilisant le ^{24}Na comme traceur de la dispersion du radiocalcium dans les liquides extracellulaires permet de mieux apprécier le comportement de ce calcium stable déjà uniformément réparti dans l'ensemble du volume de dispersion. Afin de réduire au maximum l'erreur due à l'éventualité du retour du ^{45}Ca, la clearance est calculée sur un temps très court après l'introduction du traceur (30 minutes). En toute rigueur, il faudrait recalculer la tangente à l'origine de la courbe d'épuration, mais nous nous heurterions alors à l'imprécision des points expérimentaux. De toutes façons, si la clearance est calculée pendant les 30 premières minutes après l'introduction du Ca^{45}, l'erreur commise est très inférieure à celle que l'on peut faire lorsqu'on utilise une méthode imposant l'hypothèse non vérifiée qu'il n'existe pas de retour du Ca^{45} à partir du squelette.

Certains auteurs (33, 34, 46, 116) ont déjà étudié la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine calcique pendant les temps très courts, en particulier pendant les cinq à dix premières minutes suivant l'injection du traceur, mais dans le seul but de calculer ainsi un flux sanguin osseux à partir de la valeur de la clearance osseuse. Certains d'entre eux (117) ont alors suggéré que la valeur de la clearance osseuse ainsi calculée, pouvait être représentative de l'aptitude du squelette à capter le calcium dans sa maille cristalline. Cette hypothèse corrobore les travaux de ROWLAND (98) relatifs aux études microautoradiographiques du mouvement du calcium du sang vers le squelette, démontrant que les sites d'échanges intenses ne sont pas forcément peu minéralisés, mais présentent pour leur majorité un haut degré de minéralisation. Plus récemment, GROER et MARSHALL J.H. (55) concluent que les échanges rapides de calcium sont susceptibles d'intéresser la surface des cristaux d'apatite, et pensent, comme cela est maintenant généralement

TABLEAU 18

COMPARAISON DES MOYENNES DES "λ" ET DES "λ"
DES COURBES MOYENNES.

^{45}Ca / ^{24}Na Ajustement sur une exponentielle		^{45}Ca Ajustement sur une fonction de puissance.		^{24}Na Ajustement sur une fonction de puissance.	
Moyenne des "λ"	"λ" de la courbe moyenne	Moyenne des "λ"	"λ" de la courbe moyenne	Moyenne des "λ"	"λ" de la courbe moyenne
0,024	0,025	0,57	0,56	0,27	0,27

admis, qu'il existe une relation entre la capture osseuse rapide du calcium dans le squelette et sa déposition ultérieure plus profonde dans le squelette. La connaissance du premier facteur pourrait ainsi permettre de mieux comprendre une modification du second. Or, la méthode que nous avons utilisée permet d'aborder l'étude de ce premier facteur, et nous verrons ultérieurement qu'il est susceptible de subir des variations en fonction de divers états pathogènes.

Tout d'abord, nous allons essayer d'ajuster les mêmes courbes d'évolution de la radioactivité sanguine calcique, obtenues pendant les trente premières minutes, sur différents modèles compartimentaux simples. Ces modèles ont été étudiés, soit sans aucune imposition des valeurs du coefficient de fuite, soit avec une imposition des valeurs de coefficient λ de l'exponentielle, obtenu par la "méthode à deux isotopes", afin de voir s'il existe un modèle compartimental susceptible de donner des résultats identiques ou proches de ceux obtenus par la méthode à deux isotopes.

C - II - METHODE D'ANALYSE COMPARTIMENTALE

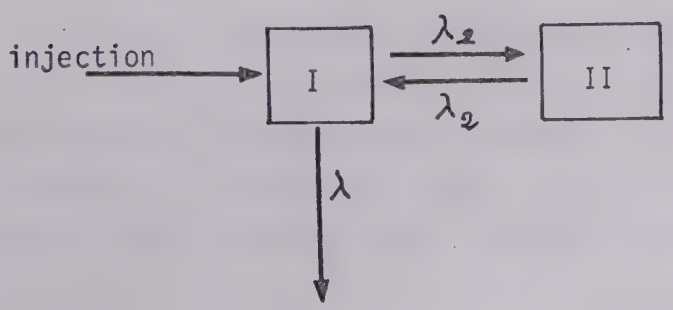
(Technique d'ajustement de BAZIN J.P.)

L'étude des modèles compartimentaux a été effective à partir de la "courbe moyenne" d'évolution de la radioactivité sanguine calcique.
Le tableau (18) montre que la moyenne des coefficients de pente " λ " des courbes d'ajustement sur une fonction donnée, est égale au coefficient de pente " λ " de la courbe moyenne obtenue à partir des dix courbes d'évolution.
En résumé :

Le " λ " d'une courbe moyenne = " λ " moyen des courbes

Ce fait conduit à considérer la courbe moyenne de décroissance de la radioactivité sanguine calcique, comme représentative de l'ensemble des courbes, et comme un matériel de base simple pour l'analyse compartimentale.

II - 1 - Modèle compartimental 1



Ce modèle simple est caractérisé par :

- le compartiment I de dispersion dans lequel s'effectue l'injection du radiocalcium et à partir duquel s'effectue la fuite ou "épuration calcique" (squelette, voies d'excrétion) ainsi que les échanges du radiocalcium avec le compartiment II
- le compartiment II, correspondant au volume de dispersion final du calcium.

Les résultats sont les suivants :

λ Fuite	λ_1 I → II	λ_2 II → I	Q PRE,.
non imposée			
0,063	0,145	0,100	0,28
imposée			
0,25	0,169	0,055	0,277

- Dans le cas d'une fuite "λ" non imposée

La solution choisie par l'ordinateur entraîne :

° une qualité d'ajustement correcte (fig. 30)
° un coefficient d'épuration λ_2, avec une période de 12 mn.
° un coefficient d'échange λ_1, avec une période de 5 mn
° un coefficient de retour λ_2, avec une période de 7 mn.
° un rapport de volume $V_2 / V_1 = 1,4$; calculé à partir de l'équation

$$\frac{\lambda^1}{\lambda_2} = \frac{V_2}{V_1}$$

La valeur de ce rapport est éloignée de celle obtenue dans le "modèle à deux isotopes" ($V_2 / V_1 = 3,4$)

- Dans le cas d'une fuite "λ" imposée = "λ" obtenu dans le modèle à deux isotopes

Les résultats montrent que :

° la qualité de l'ajustement est comparable à celle trouvée précédemment
° l'imposition de la valeur de la fuite λ (T = 30 mn) détermine la période de 5 mn pour le coefficient d'échange λ_1
° la valeur plus élevée du rapport $V_2 / V_1 = 2,7$ est plus proche de celle obtenue dans le modèle à deux isotopes (3,1).

Figure 30

ajustement de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine, obtenue pendant les 30 premières minutes sur le Modèle compartimental (

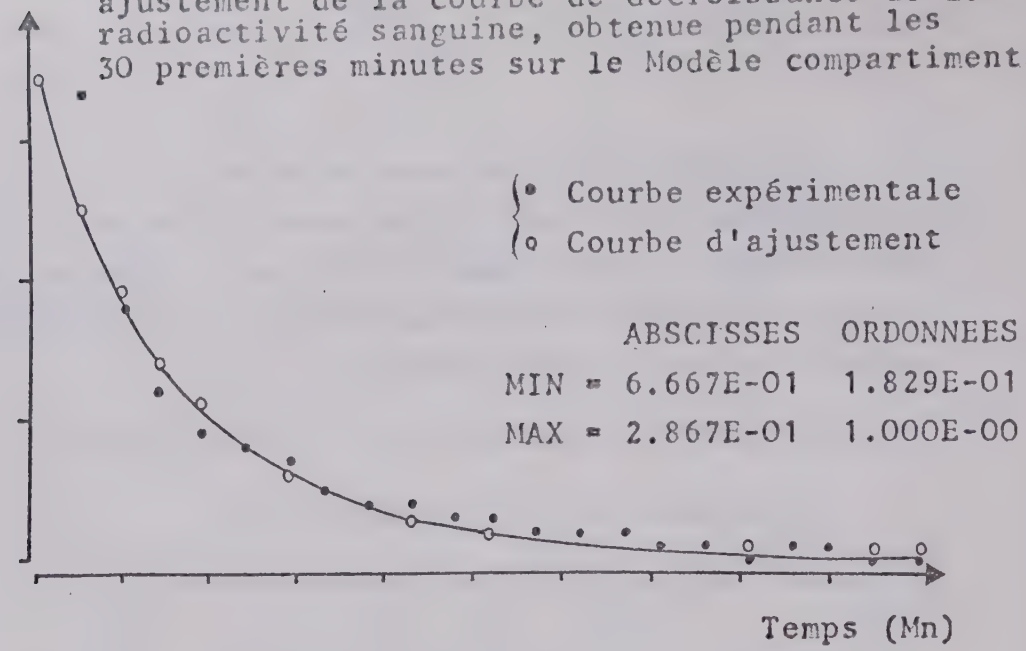


Figure 31

ajustement de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine calcique obtenue pendant les 30 premières minutes sur le Modèle compartimental (2)

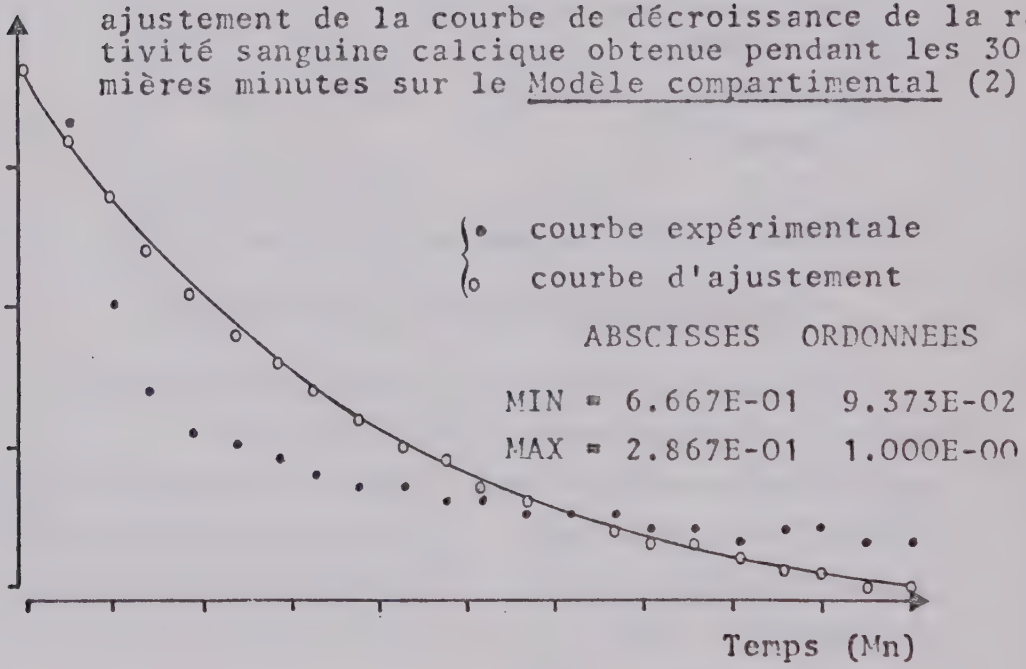
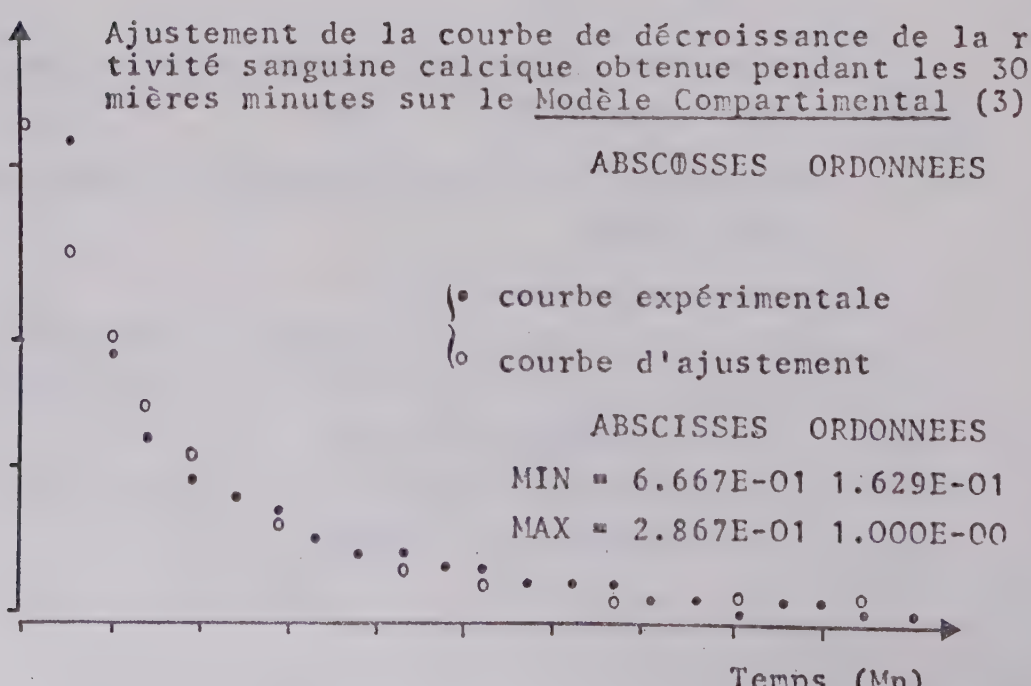


Figure 32

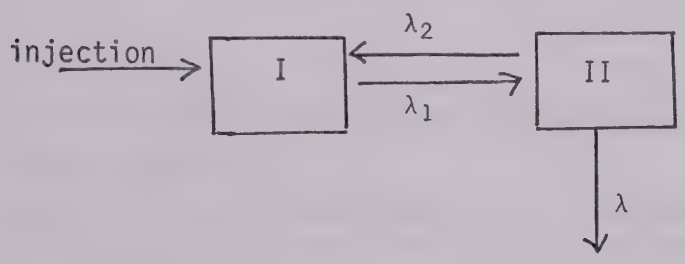
Ajustement de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine calcique obtenue pendant les 30 premières minutes sur le Modèle Compartimental (3)



Les coefficients Q PRECISION obtenus étant comparables, il reste au moins deux solutions pour la résolution de ce système bicompartimental. Si aucune contrainte n'est imposée au système, la solution 1 est choisie. Si la fuite calcique est imposée, la solution 2 fournit alors des résultats plus proches de ceux obtenus par la méthode à deux isotopes.

De toutes façons, que la fuite soit imposée ou non, l'étude de la répartition des points expérimentaux autour de la courbe ajustée, montre que le modèle choisi ne représente pas très bien le phénomène, car les valeurs initiales de la courbe ajustée sont plus faibles que les valeurs de la courbe expérimentale. Dès lors, la valeur du rapport V_2/V_1 est toujours trop faible.

II - 2 - Modèle bicompartimental 2



Ce modèle est caractérisé par :

- le compartiment I ou volume initial de dispersion dans lequel se fait l'injection du radiocalcium, et à partir duquel s'effectuent les échanges du radiocalcium avec le compartiment II

- le compartiment II, correspondant au volume de dispersion final du calcium, à partir duquel s'effectue la fuite ou "épuration" du radiocalcium (vers l'os et les voies d'excrétion).

Les résultats sont les suivants

λ Fuite	λ_1 I → II	λ_2 II → I	Q PRE
non imposée 0,001	0,1	0,009	2,90
imposée 0,025	0,1	0,01	3,04

- Dans le cas d'une fuite non imposée

° la valeur du coefficient de fuite est négligeable

° la valeur du rapport des volumes $V_2/V_1 > 8$

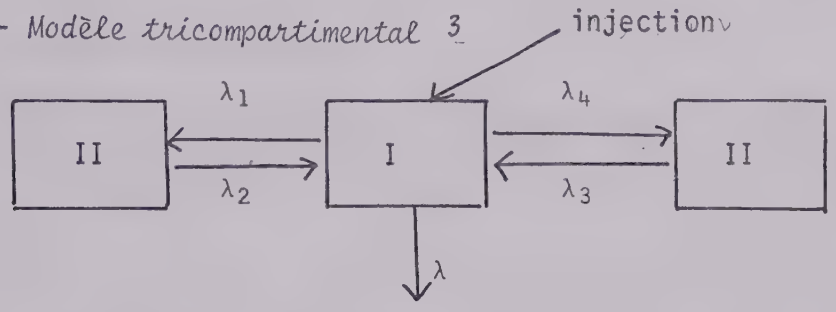
- *Dans le cas de fuite imposée*

° le rapport des volumes ≥ 6

Etant donnée la mauvaise qualité de l'ajustement et les valeurs de rapport de volume, ce type de modèle ne semble pas devoir être retenu.(Fig.31).

Par la suite, nous avons essayé de tester des modèles tricompartimentaux.

II - 3 - Modèle tricompartimental 3



Ce modèle diffère du modèle (1) seulement par l'adjonction d'un deuxième compartiment d'échange.

Les résultats sont les suivants_

λ *Fuite non imposée*	λ_1 I → II	λ_2 II → I	λ_3 I → III	λ_4 III → I	Q PRE
0,063	0,145	0,102	0,282	0,001	0,055
imposée					
0,025	0,148	0,048	0,275	0,023	0,176

Nous constatons que les valeurs de la qualité de l'ajustement sont encore meilleures que celles obtenues dans le modèle (1), et que (Figure 32)

- dans le cas de la fuite " λ " non imposée

° les valeurs des coefficients λ_1 et λ_2 sont comparables aux valeurs des coefficients λ_1 et λ_2 du modèle (1)

° la valeur du rapport V2/V1 est également comparable à celle obtenue dans le modèle (1)

° la valeur du rapport V3/V1 ≤ 0,0018 est tellement faible qu'elle enlève toute signification au compartiment II

- dans ce cas de la fuite " λ " imposée

° les valeurs des coefficients λ_1 et λ_2 sont comparables aux valeurs des coefficients λ_1 et λ_2 du modèle (1)

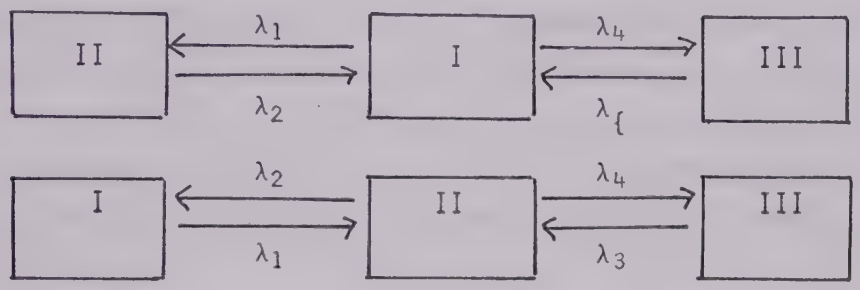
° la valeur du rapport V2/V1 = 2,7 est comparable à la valeur V2/V1 du modèle (1)

° le volume V3 est très petit devant le volume V1 ce qui lui retire de nouveau toute signification.

En définitive, dans le cas de ce type de modèle tricompartimental, les résultats montrent que l'addition d'un troisième compartiment n'apporte rien et que dès lors, la qualité d'un ajustement n'est pas très synonyme de la validité d'un modèle.

II - 4 - Modèle compartimental 4

Dans l'éventualité d'un retour du radiocalcium de l'os vers le sang, pendant les trente premières minutes après son injection, nous avons essayé de tester les modèles suivants :



Dans ce cas la technique d'ajustement global de la courbe utilisée ne permet pas la résolution de ces types de modèles.

En définitive, lorsque la courbe d'évolution de la radioactivité sanguine calcique obtenue pendant les trente premières minutes, est étudiée par l'analyse compartimentale de BAZIN, les résultats montrent que, même si les qualités d'ajustement sont bonnes, un modèle à deux compartiments n'est pas parfaitement représentatif des courbes d'évolution de la radioactivité sanguine calcique, dans leur partie ititiale. Ceci entraîne une valeur trop faible du raaport V_2/V_1 :

V2/V1 = 1,4 dans le cas d'une fuite non imposée

V2/V1 = 2,7 dans le cas d'une fuite imposée

Or, dans le modèle à deux isotopes (^{45}Ca + ^{24}Na) que nous avons utilisé, le rapport

$$\frac{\text{Volume final de dispersion}}{\text{Volume initial de dispersion}} = 3,4$$

D'autre part, les résultats obtenus à l'aide d'un modèle à trois compartiments, montrent que le troisième compartiment n'est pas nécessaire à la résolution du système, que la fuite sur le compartiment I du volume de dispersion initial soit imposée ou non.

D

ANALYSE DE LA SIGNIFICATION PHYSIOLOGIQUE DES PARAMETRES DE LA CLEARANCE CALCIQUE ET DE CAPTURE RAPIDE DU CALCIUM PAR LE SQUELETTE, LORS DE LEUR ETUDE DANS DIVERS ETATS PATHOLOGIQUES.

D - I - MATERIEL EXPERIMENTAL ANIMAL

Nous avons étudié cinq conditions pathologiques pour lesquelles le processus d'ostéoformation est généralement diminué.

1) La parathyroïdectomie (PTX) : l'intervention a été effectuée trois semaine auparavant sur un groupe de rats $o^{\nearrow}$, Sherman, âgés de douze semaines. Huit rats dont la calcémie est inférieure à 80 µg/ml ont été sélectionnés. Six rats, témoins des précédents, ont subi un simulacre d'opération cervicale. Ces animaux ont ingéré en quantité comparable, un régime normal, équilibré, sous forme de bouchons.

2) La carence en phosphore (OP) : un groupe de 10 rats $o^{\nearrow}$, Sherman, âgés de 12 semaines, est soumis à un régime pauvre en phosphore (0,03 % P ; 0,5 % Ca), pendant une semaine. Cette période courte a été choisie, car les effets de l'ingestion d'un tel régime sont très rapides, et se traduisent, dès le deuxième jour, par un syndrome biologique bien connu (36). Six rats témoins ingèrent le même régime, supplémenté en phosphore (0,3 % P, 0,5 Ca), et en quantité identique.

3) La surcharge acide chronique : cinq rats $o^{\nearrow}$, Sherman, âgés de dix semaines, sont soumis à un régime surchargé en NH_4Cl (4 %) pendnat quinze jours. Cinq rats, témoins, ingèrent le même régime moins le NH_4Cl, en quantité identique.

4) L'action de la cortisone : six rats $o^{\nearrow}$, Sherman, âgés de douze semaines, reçoivent, par voie intra-musculaire, de l'acétate de cortisone, à raison de 1 mg/100 g/jour, pendant trois semaines. Pour cette quantité de cortisone administrée quotidiennement, les effets sur le squelette sont déjà importants au bout de trois semaines (86). Sept rats, témoins, reçoivent pendant le même temps, l'excipient, par voie intra-musculaire. Ces rats ingèrent approximativement la même quantité d'un régime normal, équilibré, sous forme de bouchons.

5) L'action d'un diphosphonate : l'éthane 1 hydroxy-1-diphosphonate (E.H.D.P.). Sept rats ♂, Sherman, âgés de 12 semaines ont reçu par voie sous-cutanée, l'E.H.D.P., à raison de 10 mg/100 g/jour, pendant 10 jours. Pour cette quantité d'E.H.D.P., administrée quotidiennement, pendant ce temps, les effets sur l'os sont déjà nets (99, 103). La solution d'EH.D.P.est une solution aqueuse, ramenée à pH 7,4 par NaOH 0,1 N. Sept rats, témoins, reçoivent pendant le même temps l'excipient par voie sous cutanée. Ces animaux ingèrent approximativement la même quantité d'un régime normal, équilibré, sous forme de bouchons.

Nous avons étudié une condition pathologique pour laquelle le processus d'ostéoformation semble augmenté : la carence en calcium, isolée.
Cinq rats ♂, Sprague Dawley, âgés de seize semaines, sont soumis à un régime carencé en calcium (0 Ca) (0,06 % Ca, 0,3 % P), pendant un mois.Neuf rats témoins ingèrent le même régime supplémenté en calcium (0,5%Ca, 0,3 % P) et en quantité identique.

D - II - R E S U L T A T S

Les résultats sont exposés dans le tableau 19.

1°- PARATHYROIDECTOMIE -

La parathyroïdectomie entraîne une augmentation du λ F.P. ^{45}Ca ; le λF.P. ^{24}Na est inchangé ; le λEXP est donc augmenté.
Le volume initial, V1, étant très peu diminué, la clearance du calcium est augmentée. La calcémie étant très abaissée, la masse totale de calcium initiale devient faible ; la quantité "m" de calcium quittant le volume initial de dispersion, par unité de temps, est donc diminuée.

Chez les rats PTX, la quantité de calcium ($Ca_u + Ca_f$) éliminée quotidiennement par les voies d'excrétion n'est que très faiblement modifiée.La quantité de calcium rapidement captée par le squelette est donc significativement diminuée.

2°- LA CARENCE EN PHOSPHORE

La carence en phosphore entraîne une diminution du λF.P. ^{45}Ca, sans changer le λF.P. ^{24}Na : le λEXP est donc diminué. La valeur du volume initial

TABLEAU 19

TABLEAU RECAPITULATIF DES RESULTATS OBTENUS EN FONCTION DE DIVERSES CONDITIONS PATHOLOGIQUES.

	POIDS (g)	λ^* F.P ^{45}Ca	λ^* F.P. ^{24}Na	λ EXP. $\frac{^{45}Ca}{^{24}Na}$ (ml/mn)	VOLUME INITIAL (ml)	CLEARANCE (ml/mn)	CALCEMIE (ug/ml)
MOINS (6)	302	0,56 ± 0,02	0,26 ± 0,01	0,024 ± 0,001	28 ± 2	0,67 ± 0,04	97,5 ± 0,3
X ± (8)	263	0,61 ± 0,02	0,25 ± 0,01	0,030 ± 0,002	25 ± 2	0,75 ± 0,05	56,0 ± 0,3
p		< 0,05	> 0,05	< 0,01	> 0,05	< 0,05	< 0,001
MOINS (6)	300	0,55 ± 0,03	0,26 ± 0,01	0,024 ± 0,001	28 ± 2	0,67 ± 0,04	96,0 ± 2
P * (10)	274	0,48 ± 0,02	0,25 ± 0,01	0,019 ± 0,001	22 ± 1	0,43 ± 0,03	118,0 ± 2
p		< 0,01	> 0,05	< 0,01	< 0,001	< 0,001	< 0,001
MOINS (5)	281	0,50 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,020 ± 0,001	23 ± 2	0,45 ± 0,02	95,2 ± 0,8
$_4Cl^*$ (5)	242	0,56 ± 0,03	0,35 ± 0,02	0,019 ± 0,002	12 ± 1	0,22 ± 0,02	120,0 ± 1
p		< 0,02	< 0,02	> 0,05	< 0,001	< 0,001	:< 0,001
MOINS (9)	444	0,47 ± 0,02	0,26 ± 0,01	0,019 ± 0,001	33 ± 2	0,62 ± 0,04	96,1 ± 0,3
Ca* (5)	444	0,54 ± 0,05	0,24 ±-0,05	0,024 ± 0,003	37 ± 3	0,89 ± 0,04	95,8 ± 0,5
p		< 0,01	> 0,05	< 0,001	< 0,01	< 0,02	> 0,05
MOINS (7)	298	0,56 ± 0,03	0,24 ± 0,02	0,026 ± 0,003	29 ± 2	0,75 ± 0,03	95,2 ± 0,3
RTISONE (6)	232	0,59 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,026 ± 0,002	17 ± 1	0,44 ± 0,02	74,0 ± 0,5
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001
MOINS (7)	304	0,60 ± 0,04	0,24 ± 0,02	0,033 ± 0,005	30 ± 2	0,99 ± 0,05	96,0 ± 0,3
H.D.P.(7)	308	0,49 ± 0,03	0,24 ± 0,02	0,023 ± 0,003	29 ± 2	0,67 ± 0,04	95,4 ± 0,4
p		< 0,001	> 0,05	< 0,001	> 0,05	< 0,001	> 0,05

	MASSE CALCIUM INITIALE (µg)	m = M.λ EXP. (µg/mn)	m = M.λ EXP. (mg/jour)	Ca URINE (mg/jour)	Ca ENDOGENE FECAL (mg/jour)	0 Ca → os - m-+ (Ca urine) Ca fecal)
EMOINS (6)	2.674 ± 143	64 ± 4	92 ± 7	0,51 ± 0,05	11,2 ± 1,3	80,3 ± 7,0
TX ± (8)	1.400 ± 97	42 ± 5	61 ± 6	0,22 ± 0,02	5,5 ± 2,3	55,0 ± 6,0
p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
EMOINS (6)	2.688 ± 150	64 ± 4	92 ± 7	0,59 ± 0,05	6,9 ± 0,6	84,5 ± 7,0
P * (10)	2.595 ± 180	51 ± 5	74 ± 7	19,5 ± 1,5	4,3 ± 0,1	50,2 ± 5,0
p	> 0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,001	< 0,001	< 0,001
EMOINS (5)	2.189 ± 65	43 ± 4	62 ± 6	0,50 ± 0,05	10,5 ± 0,9	52,0 ± 4,0
H_4Cl* (5)	1.440 ± 81	27 ± 6	39 ± 8	6,8 ± 1,3	10,9 ± 2;4	21,3 ± 5,0
p	< 0,001	<0,001	< 0,001	< 0,001	> 0,05	< 0,001
EMOINS (9)	3.171 ± 128	60 ± 3	86 ± 4	0,35 ± 0,02	5,5 ± 0,8	80,0 ± 4,0
Ca * (5)	3.544 ± 320	85 ± 6	122 ± 10	0,30 ± 0,03	5,3 ± 0,7	116,4 ± 11,0
	> 0,05	< 0,001	< 0,001	> 0,05	> 0,05	< 0,001
EMOINS (7)	2.760 ± 128	72 ± 6	103 ± 9	0,33 ± 0,03	5,2 ± 0,06	97,5 ± 9,0
ORTISONE (6)	1.258 ± 120	33 ± 3	47 ± 4	0,31 ± 0,02	5,8 ± 0,05	41,0 ± 4,0
p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	> 0,05	> 0,05	< 0,001
EMOINS (7)	2.880 ± 55	95 ± 13	137 ± 17	0,48 ± 0,05	9,8 ± 1,2	127,0 ± 16,0
.H.D.P.(7)	2.766 ± 167	64 ± 8	92 ± 11	0,46 ± 0,05	9,6 ± 0,5	82,0 ± 10,0
	> 0,05	< 0,02	< 0,02	> 0,05	> 0,05	< 0,01

étant abaissée, la clearance du calcium s'en trouve d'autant diminuée.Mais l'augmentation de la calcémie compnsant la diminution du volume initial, la masse totale de calcium initiale est comparable à celle des témoins. La quantité "m" de calcium quittant le volume initial de dispersion par unité de temps est donc plus faible. Chez les rats O.P., la quantité de Ca_u est multipliée presque par un facteur 100, tandis que la quantité Ca_f n'est que peu modifiée. La quantité de calcium rapidement captée par le squelette chaque jour s'en trouve ainsi d'autant diminuée.

3°- LA SURCHARGE EN NH_4Cl

La surcharge acide chronique entraîne une augmentation des λFP. ^{45}Ca et λF.P. ^{24}Na. Le λEXP est peu modifié. Le volume initial très diminué entraîne une valeur plus faible de la clearance du calcium. L'augmentation de la calcémie ne compense pas la très grande diminution du volume initial ; c'est pourquoi la masse totale de calcium initiale est abaissée. La masse "m" de calcium quittant le volume initial de dispersion, à chaque instant, est donc diminuée.

Chez les rats surchargés en NH_4Cl , la quantité de calcium éliminée quotidiennement par voie urinaire est multipliée par un facteur 10, tandis que la quantité excrétée par voir fécale est inchangée. La quantité de calcium rapidement captée par le squelette, et par jour, est ainsi diminuée d'autant.

4°- LA CARENCE EN CALCIUM

La carence en calcium entraîne une augmentation de λFP. ^{45}Ca, tandis que le λF.P. ^{24}Na n'est pas significativement modifié. Le λEXP est augmenté. Le volume initial étant légèrement plus élevé, la clearance du calcium s'en trouve d'autant plus augmentée. La calcémie étant inchangée, la masse de calcium initiale est légèrement plus importante. La quantité "m" de calcium quittant le volume initial de dispersion, à chaque instant, est ainsi plus élevée.

Chez les rats O Ca, les quantités de calcium éliminées chaque jour par voie urinaire et fécale, sont peu modifiées. La quantité de calcium rapidement captée par le squelette et par jour, est donc augmentée.

5°- ACTION DE LA CORTISONE

L'action de la cortisons à raison de 1 mg/100 g/jour, ne modifie pas les valeurs des λF.P. ^{45}Ca, λF.P. ^{24}Na, λEXP. Le volume initial étant diminué, la clearance sanguine du calcium s'en trouve d'autant diminuée. La calcémie étant aussi plus faible, la masse de calcium initiale est abaissée. La quantité "m" de calcium quittant le sang à chaque instant est ainsi diminuée.

Chez ces animaux ayant reçu de la cortisone, la quantité de calcium éliminée quotidiennement par voie urinaire et fécale est peu modifiée. La quantité de calcium rapidement captée par le squelette et par jour, est ainsi diminuée.

6°- EFFETS DE L'E.H.D.P.

L'action de l'E.H.D.P. entraîne une diminution du λF.P. ^{45}Ca, λsans modifier le λF.P. ^{24}Na. Le λEXP est donc diminué. Le volume initial étant inchangé, la clearance du calcium est diminuée. La calcémie ne variant pas, la masse de calcium initiale est comparable à celle des témoins. La quantité "m" de calcium quittant le volume initial de dispersion, à chaque instant, est donc diminuée.

Chez ces animaux ayant reçu de l'E.H.D.P., la quantité de calcium éliminée quotidiennement par voie urinaire et fécale n'est pas modifiée. La quantité de calcium rapidement captée par le squelette et par jour est donc diminuée.

TABLEAU 20

VARIATIONS DE LA CLEARANCE SANGUINE CALCIQUE ET LA DEPOSITION INSTANTANEE TOTALE DU CALCIUM DANS LE SQUELETTE (QCa → os) DANS DIVERSES CONDITIONS PATHOLOGIQUES.

	CLEARANCE	CALCEMIE	$\frac{Ca_+ \text{ URINE}}{Ca \text{ FECAL}}$	QCa → os
PTX *	↑	↓ ↓ ↓	→	↓ ↓
OP *	↓ ↓	↑	↑ ↑	↓ ↓ ↓
O.Ca *	↑ ↑	→	→	↑ ↑
NH_4Cl *	↓ ↓ ↓	↑	↑	↓ ↓ ↓
CORTISONE	↓ ↓	↓	→	↓ ↓ ↓
E H D P *	↓ ↓	→	→	↓ ↓

* PTX : parathyroïdectomie

O.P : carence en phosphore

O.Ca : carence en calcium

NH_4Cl surcharge acide chronique

E.H.D.P : Ethane 1 - hydroxy.1-1 diphosphonate

COMMENTAIRES

Il est intéressant, en premier lieu de comparer les variations des coefficients de pente de la fonction de puissance λF.P.^{45}Ca, et de la fonction exponentielle λEXP, dans les différentes conditions pathologiques étudiées. Le λF.P.^{45}Ca caractérise une décroissance de la radioactivité sanguine, qui est la résultante de l'ensemble des processus subis par le radiocalcium (dispersion + épuration), tandis que la valeur du λEXP n'est pas tributaire des variations de la cinétique de dispersion. Dès lors, si la seule valeur du λF.P.^{45}Ca est prise en considération, une modification de la cinétique de dispersion peut masquer une plus faible variation contraire de la cinétique d'épuration. C'est le cas d'une surcharge chronique en NH_4Cl , pour laquelle les λF.P.^{45}Ca et λF.P.^{24}Na sont augmentés, tandis que le λ EXP est diminué. Une telle comparaison permet donc de dissocier le comportement du calcium radioactif, d'une part, et le comportement du calcium stable, d'autre part.

De la même façon, alors que la clearance caractérise la fuite globale du calcium hors de l'espace initial de dispersion, le paramètre Q Ca - os reflète la seule capture rapide du calcium par le squelette. Ainsi des variations dissociées sont possibles (tableau 20). C'est le cas de la parathyroïdectomie pour laquelle la clearance du calcium est augmentée, tandis que le Q Ca - os est diminué. Les deux seules conditions pathologiques étudiées, pour lesquelles les variations des valeurs de clearance de Q Ca - os sont de même sens et de même intensité, sont la carence en calcium et l'action d'un diphosphonate : pour ces deux situations expérimentales, en effet, la calcémie et les excrétions calciques ne sont pas ou peu modifiées. Pour les autres conditions pathologiques, l'intensité des variations du Q Ca - os est modifiée par rapport à la clearance du calcium, en fonction du sens et de l'intensité des variations de la calcémie et des éliminations calciques. Donc, dans le cas du calcium, la seule mesure de la clearance calcique n'est pas suffisante pour apporter des informations mêmes qualitatives concernant le paramètre de capture rapide du calcium par le squelette. Au contraire, dans le cas d'un élément tel que le DTPA, qui n'existe pas préalablement dans les systèmes vivants, et qui subit une épuration totalement glomérulaire, la seule mesure de la clearance est suffisante.

Puisque le paramètre Q Ca os caractérise clairement l'avidité du squelette pour le calcium, il importe pour en apprécier la signification fonctionnelle, de le confronter aux connaissances déjà acquises sur les différentes conditions pathologiques, au cours desquelles nous l'avons calculé.

La parathyroïdectomie entraîne une diminution de l'activité métabolique globale de l'os (24, 41, 84). Les analyses cybernétiques du métabolisme calcique, effectuées par BRONNER F. (20), indiquent une diminution du Vo^+ (paramètre de fixation du calcium dans le squelette, calculé à partir d'un modèle compartimental).En outre, les études histochimiques de BERNICK (14) mettent en évidence un trouble de la calcification de l'os, et les résultats rapportés par notre équipe (38) semblent montrer un léger défaut de déposition du calcium dans le squelette du rat. La diminution du paramètre de capture rapide du calcium par le squelette concorde avec l'ensemble de ces résultats.

La carence en phosphore provoque un rachitisme, résultant non seulement d'un défaut d'utilisation du calcium, mais aussi d'une augmentation de la résorption osseuse (10, 32, 36, 38). L'nalyse cinétique du métabolisme calcique, effectuée par HURWITZ S. (68), met en évidence une diminution du Vo^+ . Chez nos animaux carencés en phosphore, un défaut de déposition du calcium est suggéré par la diminution du paramètre de capture rapide du calcium par le squelette.

Une surcharge acide chronique entraîne une ostéopathie caractérisée par une augmentation de la résorption osseuse (39) et un défaut d'ostéoformation (35). La diminution du paramètre de capture rapide du calcium par le squelette, concorde avec ce défaut d'ostéoformation. Il faut souligner d'autre part la diminution considérable du volume de dispersion initial, observée chez nos animaux en état d'acidose, ainsi que l'existence d'une hémoconcentration. Cette dernière a été également mise en évidence par HARRISON (59) et pourrait expliquer l'hypercalcémie observée chez nos animaux. Parallèlement,il existe une augmentation de λF.P. ^{24}Na, traduisant une accélération de la vitesse de dispersion, indépendante de l'augmentation de l'élimination du ^{24}Na par voie urinaire, puisque celle-ci n'entraîne qu'une variation suffisamment faible, pour être comprise dans la marge d'erreur du λEXP.

La carence en calcium isolée, sans carence en vitamine D, provoque chez le rat une ostéoporose radiologique bien connue (52, 54, 58, 91), caractérisée par les particularités suivantes :

TABLEAU 21

COMPARAISON DES VALEURS

DE LA FIXATION DU CALCIUM (Vo+) PAR LE SQUELETTE, CITEES DANS LA LITTERATURE ET
DE LA DEPOSITION TOTALE INSTANTANEE DU CALCIUM DANS LE SQUELETTE (Q Ca →os)
DANS DIVERSES CONDITIONS PATHOLOGIQUES

	Vo^+	Q Ca → os	$\frac{\text{PATHO}}{\text{TEMOIN}}$ Vo^+	$\frac{\text{PATHO}}{\text{TEMOIN}}$ Q Ca
P T X *	36 (9)	55	0,53	0,59
TEMOINS	67	80		
O.P *	17	50,5	0,27	0,59
TEMOINS	63 (28)	84		
NH_4Cl *	↓	21,3		0,40
TEMOINS		52		
O.Ca *	↑	117		1,44
TEMOINS		81		
CORTISONE	25 (34)	41	0,42	0,42
TEMOINS	60	98		
E.H.D.P *	20	82	0,53	0,65
TEMOINS	61 (41)	126,7		

* P.T.X. : parathyroïdectomie
O.P : carence en phosphore
NH_4Cl : surcharge acide chronique
O.Ca : carence en calcium
E.H.D.P. : Ethane - 1 - hydroxy-1,1 diphosphonate
( ) référence littérature

ostéoblastose intense (79), augmentation de la fixation du ^{85}Sr et du ^{45}Ca (50) dans le squelette, formation rapide de l'os (58). Nos résultats concordent avec ces notions, puisque le paramètre de capture rapide du calcium par le squelette est augmenté.

La cortisone exerce un effet dépressif sur la formation d'os nouveau (37,40,44,67,104,110). MILHAUD G. et Coll. (81) observent une diminution du Vo^+. Nous trouvons également un trouble de la déposition du calcium dans le squelette, puisque le paramètre de capture rapide du calcium par le squelette est diminué. Chez nos rats soumis à la cortisone, nous observons en outre,de même que divers auteurs (16, 93, 103, 111) une hypocalcémie non négligeable.

L'E.H.D.P. est un diphosphonate qui, in vitro, inhibe à la fois la croissance et la dissolution des cristaux d'apatite (83, 84). In vivo, il ralentit la résorption osseuse, empêche le développement de l'ostéoporose d'immobilisation chez le rat, et réduit le renouvellement osseux, mesuré par l'étude de la cinétique du ^{45}Ca (98, 102). Une dose élevée de 10 mg/kg/jour, identique à celle que nous avons administrée, inhibe la minéralisation du cartilage et de la substance ostéoïde récemment déposée. Nous trouvons une expression de ces effets dans la diminution du paramètre de capture rapide du calcium par le squelette.

En résumé, chez tous les animaux soumis à des conditions pathogènes connues pour diminuer l'ostéoformation, le paramètre de capture rapide du calcium par le squelette est diminué; à l'inverse, chez tous les animaux soumis à une condition pathogène connue pour stimuler l'ostéoformation, ce paramètre est augmenté.

En outre, le tableau 21 permet une comparaison quantitative du paramètre Q Ca - os et du paramètre Vo^+, en fonction des conditions pathologiques étudiées. Nous constatons que les valeurs du paramètre Q Ca - os, sont toutes supérieures aux valeurs du Vo^+ d'un facteur variant de 1,3 à 4. Cette différence peut s'expliquer par le fait que le Q Ca - os, représente la quantité totale de calcium déposée à chaque instant dans le squelette, tandis que le paramètre Vo^+ représente la fraction de la quantité initialement déposée qui, par définition, participe au phénomène d'accrétion proprement dit.
Quelle est la fraction du Vo^+ qui pénètre dans le minéral de l'os pendant un temps de séjour substantiel, ou la fraction relarguée au bout de quelques jours, ou la fraction sujette à la recristallisation et la redéposition dans le

squelette, sont autant de questions qui ne peuvent être résolues par une seule analyse cinétique sanguine, mais par une étude au niveau du squelette lui-même (75, 95).

En définitive, le Q ca - os serait représentatif de la "déposition globale instantanée" du calcium dans le squelette, tandis que le Vo^+ serait représentatif de "l'utilisation" par le squelette d'une fraction du calcium déposé. La paramètre Q Ca - os inclurait donc quantitativement un paramètre d'utilisation, même s'il le précède temporanément et sa connaissance pourrait apporter des informations pour l'interprétation des chamgements de Vo^+.Ainsi (tableau 21) lorsque la valeur du rapport $\frac{PATHO}{TEMOIN}$ Q Ca - os est supérieure à la valeur du rapport $\frac{PATHO}{TEMOIN}$ Vo^+, il semble logique de conclure à l'existence d'une modification concomitante du paramètre de déposition instantanée du calcium dans le squelette et du paramètre d'utilisation (cas de la carence en phosphore et de l'action d'un diphosphonate). Lorsque la valeur du rapport $\frac{PATHO}{TEMOIN}$ Q Ca - os est proche où égale à la valeur du rapport $\frac{PATHO}{TEMOIN}$ Vo^+, il est probable qu'il existe essentiellement un trouble de la déposition instantanée du calcium dans le squelette (cas de la parathyroïdectomie ou d'une action de la cortisone).
Les deux paramètres, déposition totale instantanée du calcium dans le squelette et fixation du calcium dans le squelette, apparaissent donc complémentaires pour caractériser le processus d'ostéoformation.

Maintenant, il semble généralement admis qu'il existe une relation entre la capture rapide du calcium par le squelette et sa déposition ultérieure plus profonde (55). La connaissance du premier paramètre pourrait ainsi permettre de mieux comprendre une modification du second, que celui-ci soit un taux de fixation, un taux d'accrétion, un taux de minéralisation ou un taux d'addition du calcium sur le squelette.

E

COMMENTAIRES GENERAUX CONCERNANT LA " METHODE A DEUX ISOTOPES "

L'analyse en continu de la courbe, évite l'obligation de pratiquer des prélèvements sanguins, répartis arbitrairement pendant des temps longs après l'injection du radioélément.

D'autre part, le fait qu'elle soit effectuée pendant des temps courts permet d'injecter des activités plus faibles. En effet, la mesure précise de la radioactivité sanguine, après la douzième heure, nécessite chez le rat l'injection de 20 à 70 µCi de ^{45}Ca, ou de plus de 10 µCi de ^{47}Ca. Or, l'administration de telles activités délivre au squelette du rat des doses d'irradiation non négligeables susceptibles de modifier le métabolisme cellulaire pendant la durée de la mesure.

Cette méthode a de plus l'avantage de n'être pas tributaire des variations de débit circulatoire, ni de l'importance des espaces de dispersion, et de pouvoir s'appliquer à tout problème concernant la mesure de l'épuration d'un élément par un organe spécifique, à condition que sa dispersion soit simultanément suivie par un autre élément qui ne soit représentatif que de sa dispersion.

Ainsi, nous avons montré que le ^{24}Na pouvait être également un élément représentatif de la dispersion d'une substance telle que le DTPA-^{147} Pm, qui une fois introduite dans le sang circulant, est à la fois dispersée dans les liquides extracellulaires et entièrement épurée par filtration glomérulaire. Dans ce cas, la méthode permet de calculer la clearance rénale du DTPA.
En ce qui concerne la mesure de la clearance rénale, il existe à l'heure actuelle diverses méthodes par injection unique, d'une substance test marquée, telle que le DTPA ^{140}La (48), le diatrizoate I^{125} ou l'orthoiodohippurate (42), le radio hippuran (21), l'EDTA-^{51}Cr (43)... de telles méthodes de mesure de la filtration glomérulaire ont l'avantage de ne faire intervenir aucun cathétérisme vésical, traumatisant pour le patient, et analysent le mode de décroissance plasmatique de la substance de référence choisie, à l'aide d'un modèle bicompartimental mamillaire, préalablement étudié par SAPIRSTEIN (98). Or il est reconnu (48, 27, 43) 113) que les méthodes de mesure de la clearance rénale par injection unique, ne sont pas applicables aux cas présentant une rétention hydrique, provoquée par une insuffisance rénale sévère ou un œdème, car alors il

existe une modification du volume des liquides extracellulaires, qui entraîne la non validité du modèle bicompartimental et fausse la valeur de la clearance rénale ainsi obtenue. La méthode que nous proposons, permettrait de calculer la clearance rénale du DTPA, et ne serait pas tributaire d'une éventuelle modification du volume des fluides extracellulaires provoquée par un état pathologique.

Un autre intérêt de la méthode est de pouvoir s'appliquer à l'homme en remplaçant l'enregistrement continu par des prélèvements successifs. Chez l'homme, le temps nécessaire au ^{24}Na pour atteindre l'équilibre est de l'ordre de plusieurs heures ; le temps pendant lequel seront effectués les prélèvements, est dès lors suffisamment court, pour que la radioactivité administrée soit réduite et pour que soit diminuée d'autant la dose d'irradiation délivrée à l'organisme. De plus, si les deux traceurs, le traceur de la dispersion et l'élément tracé dont on veut connaître la clearance, sont caractérisés par une courte période radioactive ou biologique, il est possible d'effectuer deux séries de mesures à des temps rapprochés chez le même sujet. Un tel sujet devient alors son propre témoin. Il peut être, en effet,intéressant de tester chez un même individu, l'influence d'un médicament ou d'un traitement thérapeutique sur la valeur de la clearance ou du paramètre de capture par un organe.

Il est toutefois nécessaire de signaler les limites d'application de la méthode. La dispersion du 24 Na ne peut être représentative que de la dispersion de substances non liées aux protéines ou n'ayant qu'une constante de liaison faible avec ces protéines ; de plus, elle ne peut être représentative de substances se trouvant sous une forme colloïdale dans le sang circulant.Lorsque la constante d'une liaison d'une substance avec une protéine, est élevée, la dispersion s'effectue seulement dans l'espace de la protéine de liaison. C'est le cas, par exemple, du ^{237}Np, dont nous avons étudié par ailleurs, la cinétique d'épuration sanguine, et qui est immédiatement capté par les protéines lors de son introduction dans le sang. Lorsque la substance se trouve sous une forme colloïdale, le colloïde se fixe aussi sur de grosses molécules protéiques, et la capture de ce nouveau complexe par le système réticulo-endothélial est un phénomène tellement rapide que le processus de dispersion n'a pas le temps de s'effectuer. C'est également le cas de l'or dit "colloïdal" qui, en réalité, est injecté sous forme de cristaux dont la capture par le foie est un phénomène extrêmement rapide. Enfin, lorsqu'une condition pathologique

affecte de façon non négligeable l'élimination du ^{24}Na pendant le temps de la mesure, la méthode ne peut être utilisée.

°°°

En conclusion, plusieurs méthodes d'analyses de la courbe de décroissance initiale de la radioactivité sanguine calcique ont été effectuées, pour savoir si, dès les temps précoces, il était déjà possible de définir un paramètre de capture rapide du calcium par le squelette.
L'analyse en composantes principales, permet de conclure à l'existence d'un très petit nombre de paramètres ≤ 3, suffisant pour caractériser la cinétique précoce du radiocalcium, et orienter vers un choix de modèles mathématiques simples. La méthode de tirage au hasard de MONTE CARLO, vérifie l'ajustement des courbes expérimentales sur divers modèles bi ou tricompartimentaux. Cependant, la qualité des ajustements est détruite lors de l'ajustement simultané des données osseuses sur le même modèle simple ; l'ajustement simultané ne devient possible qu'en utilisant un nombre de coefficients trop élevé pour que chacun d'eux ait une signification physiologique possible. En raison du caractère aléatoire de la valeur des coefficients, une telle analyse ne peut donc que difficilement rendre compte de la capture osseuse du calcium. Au contraire, l'analyse des mêmes courbes par une fonction de puissance, permet l'ajustement simultané des données sanguines et osseuses ; elle permet aussi de concentrer les courbes en un seul paramètre caractéristique de la vitesse, et de différencier dès les deux premières heures, les groupes d'animaux présentant divers états pathologiques, bien connus pour modifier le métabolisme osseux calcique. Cependant, la fonction de puissance ne permettant que difficilement de quantifier un paramètre de capture rapide du calcium par le squelette, une nouvelle méthode permettant d'atteindre ce but est décrite.

Dans cette méthode, le ^{24}Na sert d'élément de référence pour la dispersion dans les liquides extracellulaires d'un élément tel que le radiocalcium, qui après son injection dans le sang circulant, est à la fois dispersé dans les mêmes liquides extracellulaires et essentiellement épuré par le squelette. L'étude des courbes de décroissance de la radioactivité sanguine calcique et sodique, obtenues simultanément pendant les temps très courts après l'injection du radiocalcium, permet ainsi de calculer, dès les trente premières minutes la clearance calcique ainsi qu'un paramètre de capture rapide du calcium par le squelette. Ce dernier paramètre est susceptible de subir des variations en fonction des divers états pathologiques étudiés et serait

représentatif de la déposition globale instantanée du calcium dans le squelette ; il se différencierait ainsi du paramètre de fixation Vo^{+} du calcium dans le squelette ou du paramètre d'accrétion, tout en leur étant complémentaire. Dès lors la connaissance du paramètre de capture rapide pourrait permettre de mieux comprendre une modification d'un paramètre d'utilisation.

L'intérêt majeur de la méthode réside dans le fait qu'elle n'est pas tributaire d'un modèle ou d'un système qui risquent d'être modifiés sous l'influence de facteurs pathologiques.

Et enfin, d'une façon très générale, le principe même de la méthode peut s'appliquer à tout problème concernant la mesure de l'épuration par un organe spécifique d'un élément à la fois dispersé et épuré, à condition que sa dispersion soit simultanément suivie par un autre élément qui ne soit représentatif que de cette dispersion.

B I B L I O G R A P H I E

1 - ÆBERHARDT A. ; NIZZA P. : REMY J. ; BOILLEAU Y.
Etude comparée du métabolisme du ^{144}Ce en fonction de son état physico-chimique chez le rat.
Int. J. Radiation Biology, 1962, 5, 3, 217-246.

2 - AGARD J. - Méthodes de simulation, Monte Carlo, et Jeux d'Entreprise.
Cours de 3e Cycle - I.S.U.P.

3 - ANDERSON J. ; TOMLINSON R.W.S. ; OSBORN S.B.
An interpretation of radioisotope turnover data.
Lancet, 1962, I, 949-950.

4 - ANDERSON T.W. - An introduction to multivariate statistical analysis.
Wiley, 1958.

5 - AUBERT J.P. ; BRONNER F. ; RICHELLE L.S. -
Quantitation of calcium metabolism theory.
J. Clin. Invest., 1963, 42, 6.

6 - AUBERT J.P. : MILHAUD G.
Méthode de mesure des principales voies du métabolisme calcique chez l'homme.
Biochim. Biophys. Acta, 1960, 39, 122-139.

7 - AUBERT J.P. ; MOUKHTAR M.S. ; MILHAUD G.
Etude du métabolisme du calcium chez le rat à l'aide du ^{45}Ca.
Rev. franç. Etud. clin. Biol., 1961, VI, 1034-1043.

8 - BAUER G.C.H. ; CARLSSON A. -
Metabolism of bone salt investigated by simultaneous administration of ^{45}Ca and 32 P to rats.
J. Bone Jt Surg. (1955 a) 37 B, 658.

9 - BAUER C.G. ; CARLSSON A. ; LINDQUIST B.
Bone on salt metabolism in human, studied by means of radiocalcium.
Acta med. scand., 1957, 158, 143.

10 - BAYLINK D. ; WERGEDAL J. ; STAUFFER M.
Formation, mineralisation and resorption of bone in hypophosphatemic rats.
J. clin. Invest., 1971, 50, 2519.

11 - BAZIN J.P. ; MARCHADIER B. ; LAFUMA J.
Traitement mathématique des données métaboliques liées à la théorie des compartiments.
Paris, Société française de Radioprotection, 1971, 334-380.

12 - BAZIN J.P. ; PARMENTIER C. ; DIPAOLA R.
Analyse des compartiments et analyse factorielle dans l'étude de la cinétique du fer : application aux splénomégalies myéloïdes.
(communication personnelle).

13 - BENZECRI J.P. et coll. - Analyse des données. 1/ La taxinomie
2/ L'analyse des correspondances - 619 et 615 p.
Ed. DUNOD, Paris, 1973.

14 - BERNICK S. - Histochimical study of bone in parathyroïdectomised rats.
Calc. Tiss. Res., 1970, 6, 316-328.

15 - BLAUFOX D. ;COHEN A.
Single injection clearance of iodothalamate ^{131}I in the rat.
Amer. J. Physiol., 1970, 2, 218.

16 - BORLE J.W. ; PLOTZ C.M. ; LATTES R. ; HOWES E.L. ; MEYER K. ; RAGAN C.-
Effect of cortisone and experimental fractures in the rabbits -
Endocrinology, 1960, 66, 508.

17 - BOUDET J. (communication personnelle)
Clinique de Néphrologie - Hôpital des Enfants Malades, Paris.

18 - BRONNER F. ; Disposition of intraperitoneally injected calcium ^{45}Ca
in suckling rats.
J. gen. Physiol. 1958, 41, 767-782

19 - BRONNER F. - Some problems in the compartmental analysis of calcium metabolism
Trans. N.Y. Acad. Sci., 1967, 29, Series II, 502-511.

20 - BRONNER F. - Quantitative aspects of calcium metabolism and homeostasis -
Proceed. 10th european Symposium on calcified Tissues.
Hambourg, Germany, 1973.

21 - BRIGGS J.D. - Measurement of the fall in the level of plasma radioactivity
after intravenous administration of radiohippuran as a test of renal
fonction.
J. clin. Path. 1965, 18, 363.

22 - BULLAMORE J.R. ; NORDIN B.E.C. ; WILKINSON R. ; MARSHALL D.H. -
Radiocalcium measurement of bone turnover in disorders of calcium
metabolisme using a model based on an expanded pool - "Dynamic
studies with radioisotopes in medicine" -
Int. At. Energy Agency, Vienna 1971.

23 - BURCH G.E. ; REASER P. ; CRONVICH J.A. -
Rates of sodium turnover in normal subjects and in patients with
congestive heart failure.
J. Lab. clin. Med. 1974, 32, 1169.

24 - BURKHART J.M. ;JOWSEY J.
Morphologic evidence of osteomalacia in the parathyroïdectomised dog.
Mayo clin. Proc. 1966, 41, 663.

25 - CAILLIEZ F. ; MAILLES J.P. : NAKACHE J.P. ; PAGES J.P.
Analyse des données multidimensionnelles.
(à paraître chez DUNOD).

26 - CARDOZO R.H. ; EDELMAN J.S.
The volume of distribution of sodium thiosulfate as a measure of the
extra-cellular fluid space.
J. clin. Invest. 1952, 31, 280.

27 - CHEEK D.B. - Extracellular volume ; its structure and measurement and the influence of age and desease.
Medical Progress, 1961, Vol 58, n° 1.

28 - CHEVALLIER F. - Biodynamique et Indicateurs . Cours et documents de biologie.
Vol. 4 Ed. Gordon et Breach, 1972.

29 - CHORAFAS D.N. ; NOZED H.
La simulation mathématique et ses applications, 345 p.
Ed. DUNOD, Paris, 1966.

30 - COHEN Y. ; STOCLET J.C. -
Mesure des volumes extracellulaires. Application en pharmacodynamie.
Ann. phys. biol. et med. J., 1967, pp 63-67.

31 - COHEN D.H. ; BOZZO S.R. -
Formulation and testing of a compartmental model for calcium metabolism in man -
Rad. Res. 1965, 26, 319.

32 - COPP H. - Effets d'un régime pauvre en phosphore sur l'homeostase du calcium et de l'ion phosphate chez le rat jeune - "Phosphate et métabolisme phosphocalcique" pp 111
Ed. D.J. HIOCO - SANDOZ, Paris 1970.

33 - COPP D.H. ; SHIM S.S. -
Extraction ratio and bone clearance of 85 Sr as a measure of effective bone blood - Circulat. research, 1965, 16, 661-667.

34 - COPP D.H. ; SUIKER A.P. -
Study of calcium kinetics in calcium and phosphorus deficient rats with the aid of radiocalcium - Radioisotopes and bones -
Mc LEAN F.C. ; LACROIX P. ; BUPY am. ed. BLACKWELL Scientific publications OXFORD, 1962.

35 - CUISINIER-GLEIZES P. ; BENEST D. ; GEORGE A. : MATHIEU H.
Rôle des parathyroïdes dans l'acidose métabolique chronique chez le rat en croissance -
Colloques internationaux CNRS 1973 (à paraître).

36 - CUISINIER-GLEIZES P. ; GEORGE A. ; GIULIANO C. ; MATHIEU H.
Effets ostéolytiques du régime pauvre en phosphore chez le rat, in "Phosphate et métabolisme phosphocalcique" pp. 117
Ed. D.J. HIOCO, SANDOZ, PARIS, 1970.

37 - DAVIDOVITCH Z. - Radiographic and autoradiographic study on the effects of cortisone on bone growth in young albino-rats.
Arch. oral. Biol. 1971, 16, 897-914.

38 - DEBOVE F. ; BENEST D. ; CUISINIER-GLEIZES P. ; MATHIEU H. -
Stimulation de l'ostéolyse périostéocytaire par la carence en phosphare.
C.R. Acad. Sc. Paris, 1972, 274, 3273-3276.

39 - DELLING G. ; DONATH K. - Morphometrische, elektronemmikroskopische und physikalish-chemische untersuchungen über die experimentelle Osteoporose bei chronischen Acidose -
Wirchows Arch. Abt. A. Path. Anat. 1973, 358, 321-330.

40 - DUNCAN H. ; HANSON C.A. ; CURTISS A.
The different effects of soluble ans crystalline hydrocortisone on bone.
Calc. Tiss. Res. 1973, 12, 159-168.

41 - DYMLING J.F. - Calcium kinetics in osteopenia and parathyroïd disease.
Acta med. scand. Suppl. 1964, 175.

42 - FARMER C.D. ; TAUXE W.N. ; MAHER F.T. ; HANT I.C. -
Determination of renal clearance by diatrizoate I 125, and orthoiodohippurate
Suppl. III to Circulation, 29 et 30, 1964.

43 - FAVRE H. - Détermination des fonctions rénales par la technique de l'injection unique. Analyse statistique du modèle bicompartimental proposé par Saperstei
J. Urol. Néphrol. 1973, 10, 79, pp. 1007-1052.

44 - FOLLIS R.H. - Effect of cortisone on growing bone in the rat -
Brit. J. exp. Path. 1951, 44, 491-496.

45 - FORBES G.B. - Le Sodium
Mineral Metabolism 1962, vol.II, pp. 1-72.

46 - FREDERICKSON S.M. ; HONOUR S. ; COPP D.H.
Measurement of initial bone clearance of ^{45}Ca from blood in the rat.
Fed. Proc., 1955, 14, 49.

47 - FUNCK-BRENTANO J.L. ; LAFUMA J. ; JUNGERS P. ; CHANARD J. ; ASSAILLY J. -
Recherches sur la définition d'un modèle de la répartition du 24 Na chez l'homme. Critique de l'analyse multicompartimentale -
"Dynamic studies with radioisotopes in médicine" pp. 539-552
International atomic energy agency, Vienne, 1971

48 - FUNCK-BRENTANO J.L. ; LELLOUCH J. ; LESKI M. -
Nouvelles méthodes de mesure de la clearance de DTPA-lanthane 140 par enregistrement de la décroissance de la radioactivité recueillie par détection externe.
Rev. franç. Etud. clin. Biol., 1967, 12, 790.

49 - GASSER A.B. ; MORGAN D.B. ; FLEISH H.A. ; RICHELLE L.S. -
The influence of two diphosphonates on calcium metabolism in the rat.
Clin. Science, 1972, 43, 31-45.

50 - GASTER D. ; HAVIVI E. ; GUGGENHEIM K. -
Differential effects of low calcium diet on the bones of mice and rats.
Nutritio and Data, 1967, 9, 200.

51 - GELLHORN A. ; MERELL M. ; RANKIN R.M. -
The role of transcapillary exchange of sodium in normal and shocked dogs.
Amer. J. Physiol. 1944, 142, 407.

52 - GERSHON-COHEN J. ; JOWSEY J.
The relationship of dietary calcium to osteoporosis.
Metabolism 1964, 13, 221.

53 - GILBERT D. ; FENN W.O.
J. gen. Physiol. 1957, 40, 393.

54 - GREAVES J.P. ; SCOTT M.G. ; SCOTT P.P. -
Calcium deficiency in cats on a high protein diet, raw heart -
J. Physiol. (Lond.) 1959, 146, 36.

55 - GROER G.P. ; MARSHALL J.H. -
Mechanism of calcium exchange at bone surface.
Calc. Tiss. Res. 1973, 12, 175-192.

56 - GROSS J. - Iodine and Bromine in Mineral Metabolism- 1962, Ed. COMAR C.L. ; BRONNER F. Vol 2, PART B. CHAP 29, pp 267.
Academie Press, New York and London.

57 - HANDBOOK of BIOLOGICAL DATA - Edition SPECTOR 1966.

58 - HARRISON M. ; FRASER R. -
Bone structure and metabolism in calcium deficient rats.
J. Endocr. 1960, 21, 197.

59 - HARRISON M. ; HARRISON H. -
The effect of acidosis upon the renal tubular reabsorption of phosphate.
Amer J. Physiol., 1941, 134.

60 - HARRISON J.E. ; HITCHMAN A.J.W. ; FINLEY J.M. ; FRASER ; YENDT E.R. ; BAYLEY T.A. ; Mc NEILL K.G. ;
Effect of treatment on calcium kinetics in metabolic bone disease-
Metab. 1971, 20, 12.

61 - HEANEY R.P. - Evaluation and interpretation of calcium kinetic data in man.
Clin. Orthop. 1964, 31, 153.

62 - HEINZ E. ; ÖBRINK K.J. ; ULFENDAHL N.
The secretion of halogen into the gastric juice.
Gastroenterology 1954, 27, 98.

63 - HEITZ C. ; STOCLET J.C.
Paramètres du renouvellement rapide du calcium chez le rat vigile et anesthésié.
J. of Physiol. 1974, 69, n° 2, 256-257 A

64 - HELLERSTEIN S. ; KAISER C. ; DARROW D.D. ; DARROW D.C. -
The distribution of bromide and chloride in the body.
J. clin. Invest. 1969, 39, 282

65 - HOTELLING H. - Analysis of a complex of statistical variable into principal components.
J. Educ. Psych., 1933, 24, 417-441, 498-520.

66 - HUMPHREYS E.R. - Distribution of ^{239}Pu in rat skelton.
Symposium on "The determination of radionuclides in environmental and biological materials at SUDBURY HOUSE, 1973.

67 - HULTH A. ; OLERUD S.
The effect of cortisone on growing bone in the rat.
Brit. J. exp. Path. 1963, 44, 491.

68 - HURWITZ S. ; STACEY R.E. ; BRONNER F.
Role of vitamine D in plasma calcium regulation.
Amer. J. Physiol. 1969, 216, 2, 254-261.

69 - KRANE S.M. ; BROWNELL G.L. -
The effect of thyroïd disease on calcium metabolism in man.
J. clin. Invest. 1956, 35, 874.

70 - KLOTZ I.M. - The application of the low of mass action to binding by proteins. Interaction with calcium.
Arch. Biochem. 1946, 9, 109.

71 - LAFUMA J. - NENOT J.C. ; MORIN M.
Méthode nouvelle d'étude de l'efficacité des chélateurs dans la série polyaminé pour la décontamination interne. Rapport CEA R351 9 1968 E
Centre d'Etudes nucléaires de Fontenay aux Roses.

72 - LEGRAND J. - Estimation des débits de dose obsorbée par les tissus endostéaux et la moelle osseuse de vertèbres contaminés par un élément ostéotrope émetteur β- . Rapport C.E.A. R. 4388, 1972

73 - MARSHALL J.H. - Theory of alkaline earth metabolism 1963. REPORT ANL 6646, 5-29, USA EC

74 - MARSHALL J.H. - Calcium pools and the power function - in "Compartments, pools and spaces in medical physiology" - U.S. At. Energy comm. 1967, 451-468.

75 - MARSHALL J.H. in "Mineral Metabolism" - Eds COMAR C.L. and BRONNER F. 1969, Vol. 3, Chap. 1, p. 1 - Academic Press, New York.

76 - MARSHALL J.H. ; LLOYD E. ; RUNDO J.
Alkaline earth metabolism in adult man.
Health Physics, 1973, 24, n° 2

77 - MASSIN J.P. ; SAVOIE J.C. ; CAMUS J.P. ; LIEVRE S.A. -
Etude isotopique du métabolisme calcique chez 5 sujets normaux et 5 sujets atteints d'hyperparathyroïdisme primitif.
Essai d'une méthode d'analyse tricompartimentale.
Ann. Endocr., Paris 1968, 29, 211-236.

78 - MASSIN J.P. ; VALLEE G.
Etude isotopique du métabolisme calcique chez dix sujets selon les méthodes à trois compartiments.
Ann. Endocr., Paris, 1969, 30, 417-422.

79 - MATHIEU H. - LAVAL JEANTET M. : CUISINIER-GLEIZES P. ; HABIB R. ; OLIGO N. ; JUSTER M.
Effets de doses variables de vitamine D3 sur la nature de l'ostéopathie provoquée par la carence en calcium chez le rat en croissance.
Path. Biol. 1966, 14, 1117.

80 - MICHON G. ; MAILLARD M.J.
Une méthode d'étude de la cinétique des absorptions intestinales des ions minéraux radioactifs.
Acad. Press. London and New York (1962)

81 - MILHAUD G. ; REMAGEN W. ; GOMES de MATOS ; AUBERT J.P. - Etude du métabolisme du calcium chez le rat à l'aide du ^{45}Ca - II Action de la cortisons.
Rev. franç. Et. clin. biol., 1960, V, 354-358.

82 - MILLER H. ; MUNRO D.S. RENSCHLER H.E. ; WILSON G.M.
Observations on the measurement and distribution of exchangeable sodium in man. in "Radioisotope Conference, 1954" (J.E. JOHNSTON, ed.), Vol. 1, pp. 138-146, Academie Press New York

83 - MINKIN C. ; RABADJIJA L. ; GOLDHABER P. ;
Bone remodeling in vitro : the effects of two diphosphonate on osteoïd synthesis and bone resorption in mouse calvaria.
Cal. Tiss. Res. 1974, 14, 161-168.

84 - MIRAVET L. ; HIOCO D. ; BORDIER Ph.-
Etude cinétique avec le 45 Ca dans l'hyperparathyroïdie avec ou sans lésions osseuses, et dans l'hypoparathyroïdie.
Calc. Tiss. Res., 1964, 437-449.

85 - MOREL F. - Techniques de la mesure des échanges capillaires à l'aide des indicateurs radioactifs.
Helv. Physiol. pharmacol. Acta, 1950, 8, 52-73.

86 - MOREL F. - Quelques aspects de la régulation endocrinienne de l'équilibre hydrominéral enregistré chez le rat à l'aide du radiosodium 24 Na
Rapport C E A n° 362, 1955 CEN SACLAY.

87 - MURPHY B. ; DOSSETOR J.B. ; BECK J.C.
Serial determinations of extracellular fluid volume using the radiosulfate space method.
Canad. J. Biochem. 1963, 41, 497-510.

88 - NEER R. ; BERMAN M. ; FISHER L. ; ROSENBERG L.E. -
Multicompartimental analysis of calcium kinetics in normal result
J. clin. Invest. 1967, 46, 1964.

89 - NENOT J.C. - Etude de l'influence de l'irradiation sur l'épuration pulmonaire.
3rd Int. Symp. on inhaled particles. London, sept. 1970, 16-23.

90 - NENOT J.C. ; MORIN M. ; LAFUMA J. -
Etude métabolique et thérapeutique des contaminations respiratoires par certains actinides en solution.
Hlth. Phys. Pergamon Press, 1971, 20, 167-177.

91 - NORDIN B.E.C. - Osteomalacia, osteoporosis and calcium deficiency.
Clin. Orthop. 1960, 17, 235.

92 - PINCUS J.B. ; NATELSON S.; LUGOVOY J.K. -
Effect of epinephrine ACTH, and cortisone on citrate, calcium glucose and phosphate levels in rabbits.
Proc. Soc. exp. Biol., 1951, 78, 24

93 - REID A.F. ; FORBES G.B. ; BONOURANT J. ; ETHERIDE J. -
Estimation of total body chloride in man by radiobromide dilution.
J. Lab. clin. Med. 1956, 48, 63.

94 - REYNOLDS J.J. ; MINKIN C. -
The effect of two diphosphonates on the resorption of mouse calvaria in vitro.
Calc. Tiss. Res., 1972, 10, 302-313

95 - RICHELLE L.S. ; ONKELINX B. in "Mineral Metabolism" (Eds. COMAR C.L. and BRONNER F.), 1969, Vol. 3, p. 123 -
Academie Press New York

96 - RICHMOND J.E. ; HASTINGS A.B.
Distribution-equilibre of sulfate in vitro between red blood cells and plasma.
Amer. J. Physiol. 1969, 199, 821.

97 - ROWLAND R.E. - Exchangeable bone calcium.
Clin. Orthop. 49. Copyrighy 1966 by LIPPINCOURT COMPANY.

98 - RUSSEL R.G.G. ; KISLING A. ; CASEY P.A. ; FLEISCH H. ; THORTON J. ; SCHENK R. ; WILLIAMS D.A.
Effects of diphosphonates and calcitonine on the chemistry and quantitative histology of rat bone.
Calc. Tiss. Res. 1973, 11, 179-195

99 - SAPIRSTEIN L.A. ; VIDT D.G. ; MANDEL M.J. ; HANUSEK Ch -
Volumes of distribution and clearance of intravenously injected creatinine in the dog.
Amer. J. Physiol. 1955, 181, 330.

100 - SAVOIE J.C. ; JUNGERS P.
Mesure de l'espace extra-cellulaire chez l'homme à l'aide du radiosulfate S35
Rev. franç. Etud. clin. biol., 1965, 10, 99-106.

101 - SHEATZ G.C. ; WILDE W.S. -
Transcapillary exchange rate and volume of distribution of sulfate and sodium as indicated by S^{35} SO_4 and Na^{24} in rat.
Amer. J. Physiol. 1950, 162, 687.

102 - SCHENK R. ; MERZ W.A. ; MUHLBAUER R. ; RUSSELL R.G.G. ; FLEISCH H.
Effect of Ethane 1-hydroxy-1, 1-diphosphonate (EHDP) and dichloromethylene diphosphonate (Cl_2 MDP) on the calcification and resorption of cartilage and bone.
Calc. Tiss. Res. 1973, 11, 196-214.

103 - SIMMONS D.J. ; KUNIN A.S. -
Autoradiographic and biochimical investigations of the effect of cortisone on the bones of the rat.
Clin. Orthop. 1967, 55, 201-215.

104 - SISSONS H.A. ; HADFIELD G.J. - The influence of cortisone on the structure and growth of bone.
J. Anat. 1955, 89, 69-79.

105 - SOREMARK R. - Excretion of bromide ions by human urine.
Acta Physiol. Scand. 1960 (b) 56, 306.

106 - SOREMARK R. - Distribution and kinetics of bromide ions in the mammalian body. Some experimental investigations using 80Br and 82 Br -
Acta Radiol. Suppl. 190, 1, 1960 a

107 - STOCLET J.C. - Les échanges calciques rapides analysés par le 45 Ca chez le rat (Pharmacodynamie) - CR Acad. Sciences 1960, 251, pp. 1834-1836.

108 - STOCLET J.C. - Etude comparative de la répartition du 45 Ca et du 24 Na entre le plasma sanguin et différents organes du rat.
CR Acad. Sciences 1959, 248, Pp 3229-3231.

109 - STOCLET J.C. - Mouvements du calcium dans le muscle au repos et en activité chez le rat in vivo.
Thèse ès-Sciences. Ed. MASSON et Cie, 1966.

110 - STOREY E.- Bone changes associated with cortisone administration in the rat.
J. Exp. Path. 1960, 41, 207-213.

111 - THOMPSON J.S. : URIST M.R. -
Effects of cortisone on bone metabolism in intact and thyroïdectomieed rabbits.
Calc. Tiss. Res. 1973, 13, 197-215.

112 - TOMLINSON R.W.S.; WALL M. ; OSBORN S.B. ; ANDERSON J.
Radiocalcium studies in normal subjects.
Calc. Tiss. Res. 1967, 1, 197-203.

113 - TRUNIGER B. ; DONATH A. ; KAPPELER M.
Simplified clearance techniques.
Helv. Med. Acta 1968, 34, 116.

114 - VALLÉE G. ; BEAUGAS C. ; IZEMBART M. ; MASSIN J.P. -
Exploitation d'un programme d'analyse de la cinétique des traceurs.
Rev. Inform. Méd., 1971, 2, 219-227.

115 - VALLÉE G. : BELIN J.P.
L'approche multiexponentielle des données discrètes préalables à l'emploi de la méthode compartimentale.
Ann. Phys. biol. méd. 1969, 3, 9-18.

116 - WEINMAN D.T.
Skeletal clearance of ^{47}Ca and ^{85}Sr ans skeletal blood flow in dogs.
Proceeding of Staff Meetings of Mayo Clinic, 1963, 38, 559-570

117 - ZNEDEK HRUZA M.D. PAB ; MILENA WACHTLOVA ph D.
Diminution of bone blood flow and capillary network in rats during aging
J. of Gerontology, Vol. 24, n° 3, 1969.

118 - RASMUSSEN P.
The concentration of calcium, inorganic phosphate and protein in the interstitial fluid of rats.
Calc. Tiss. Res., 1970, 6, 197-203.